



**T.C.
AKDENİZ ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ
PLASTİK, REKONSTRÜKTİF VE ESTETİK
CERRAHİ ANABİLİM DALI**

**RAT İNFERİÖR EPİGASTRİK DERİ FLEBİNDE
FARKLI GECİKTİRME VE İSKEMİK KOŞULLAMA
METODLARININ İSKEMİ/REPERFÜZYON SONRASI FLEP
SAĞKALIMINA ETKİLERİNİN KARŞILAŞTIRILMASI**

UZMANLIK TEZİ

Dr. Polat BİÇİCİ

Antalya, 2014



**T.C.
AKDENİZ ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ
PLASTİK, REKONSTRÜKTİF VE ESTETİK
CERRAHİ ANABİLİM DALI**

**RAT İNFERİOR EPİGASTRİK DERİ FLEBİNDE
FARKLI GECİKTİRME VE İSKEMİK KOŞULLAMA
METODLARININ İSKEMİ/REPERFÜZYON SONRASI FLEP
SAĞKALIMINA ETKİLERİNİN KARŞILAŞTIRILMASI**

UZMANLIK TEZİ

Dr. Polat BİÇİCİ

Tez Danışmanı: Prof.Dr. O. Koray COŞKUNFIRAT

“Kaynak gösterilerek tezinden yararlanılabilir”

Antalya, 2014

TEŞEKKÜR

Bu çalışma 2013-2014 yılları arasında Akdeniz Üniversitesi Tıp Fakültesinin Plastik, Rekonstrüktif ve Estetik Cerrahi Anabilim Dalının bilimsel araştırma ve uygulama çalışmalarına verdiği destek ile hazırlanmıştır.

Uzmanlık eğitimim süresince değerli bilgi ve tecrübelerini benimle paylaşan, tez çalışmamın hazırlanması boyunca büyük bir ilgi ile çalışmamı takip eden, gösterdiği sabır ve hoşgörüsü bana destek olan, iskemi/reperfüzyon patofizyolojisi konusundaki bilgileri ile çalışmamı tamamlamamda her türlü desteği sağlayan tez danışmanım ve değerli hocam Sayın Prof.Dr. O.Koray COŞKUNFIRAT'a çok teşekkür ederim.

Cerrahi sevgisi, çalışma azmi, cesareti ve geniş ufkuyla yeni bilimsel gelişmelere katkı sağlayan ve aynı şekilde bizi yönlendiren, uzmanlık eğitimim boyunca destek olan değerli hocam Prof.Dr. Ömer ÖZKAN'a çok teşekkür ederim.

Cerrahi eğitimim süresince desteğini benden esirgemeyen, öğrenme ve uygulama adına bize yardımcı olan ve yol gösteren değerli hocam Doç.Dr. Özlenen ÖZKAN'a çok teşekkür ederim. Tez çalışmalarım ve klinik çalışmalar sırasında tecrübelerini paylaşan ve yol gösteren değerli hocam Yrd.Doç.Dr. Arzu AKÇAL'a çok teşekkür ederim.

Uzmanlık eğitimim boyunca tecrübelerini benden esirgemeyen Uzm.Dr. Asım USLU'ya, Uzm.Dr. Anı ÇİNPOLAT'a, klinik çalışmalarım da ayrıca destek olan Uzm.Dr. Gamze BEKTAŞ'a, meslektaşım olmasının yanında arkadaşlığını da her zaman hissettiren Uzm.Dr. A. Harun ŞİMŞEK'e çok teşekkür ederim. Klinik çalışmalarım da bana yardımcı olan Dr. Seçkin AYDIN SAVAŞ'a, desteğini ve yardımlarını hiç eksiltmeyen meslektaşım ve arkadaşım Dr. Kerim ÜNAL'a, tez çalışmalarım da bana yardımcı olan Dr. Mehmet Can UBUR'a ayrıca Dr. Serkan İLHAN'a, Dr. Onur OĞAN'a, Dr. Adil CÜMŞÜDOV'a çok teşekkür ederim.

Tez çalışmam boyunca laboratuvar da yardımcı olan Vet.Hk. Doğa BESNE ve İbrahim ÇALIŞKAN'a, verilerin toplanması ve derlenmesi aşamasında yardımcı olan Özden ÖZ'e, çalışan tüm klinik hemşire ve personelimize teşekkürü bir borç bilirim.

Hayatım boyunca bana destek olan ve bu günlere gelmemi sağlayan babam Mustafa BİÇİCİ, annem Pakize BİÇİCİ ve ablalarım a sonsuz teşekkür ederim. Uzmanlık eğitimim boyunca anlayışı ve inancı ile madden ve manen her zaman yanımda olan eşim Ecz. Merve BİÇİCİ'ye teşekkür ederim.

İÇİNDEKİLER

	<u>Sayfa</u>
Simgeler ve Kısaltmalar Dizini	ii
Tablolar Dizini	iii
Resimler Dizin	iv
1. GİRİŞ VE AMAÇ	1
2. GENEL BİLGİLER	4
2.1. Geciktirme Prosedürü	10
2.2. İskemik Önkoşullama	13
2.3. İskemik Ardkoşullama	17
3. GEREÇ VE YÖNTEM	20
3.1. Kontrol Grubu	20
3.2. Geciktirme-1 Grubu	21
3.3. Geciktirme-2 Grubu	22
3.4. Geciktirme-3 Grubu	22
3.5. İskemik Önkoşullama Grubu	23
3.6. İskemik Ardkoşullama Grubu	23
3.7. İskemik Önkoşullama + İskemik Ardkoşullama Grubu	24
4. BULGULAR	25
5. TARTIŞMA	32
6. SONUÇLAR	39
7. ÖZET	40
8. ABSTRACT	42
9. KAYNAKLAR	44

SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ

ACE	Anjiyotensin dönüştürücü enzim
ANP	Atriyel natriüretik peptit
AT1	Anjiotensin 1
ATP	Adenozin trifosfat
bFGF	Temel fibroblast büyüme faktörü
cGMP	Siklik guanozin monofosfatın
eNOS	Endotelyal nitrik oksit sentaz
ERK/Akt	Ekstrasellüler sinyal düzenleyici kinaz/protein kinaz B
ETZ	Elektron transport zinciri
GPL-1	Glukagon peptid like 1
H₂O₂	Hidrojen peroksit
KATP	ATP duyarlı potasyum kanalları
MAC	Membran saldırı kompleksi
MPTP	Mitokondriyal permisyon transisyon porları
NADPH	Nikotinamid adenin dinükleotid fosfat
NFκB	Nükleer faktör kappa B
NO	Nitrik oksit
NOS	Nitrik oksit sentaz
O₂⁻	Süperoksit anyon
OH	Hidroksil radikali
PDEI	Fosfodiseteraz inhibitörleri
PKC	Protein Kinaz C
RISK	Reperfüzyon hasarı kurtarma kinaz
sCR1	Çözünebilir kompleman reseptör tip 1
SOD	Süperoksit dismutaz
SPSS	Statistical Package for Social Sciences
VEGF	Vasküler endotelyal büyüme faktörü

TABLolar DİZİNİ

<u>Tablo</u>	<u>Sayfa</u>
4.1. Gruplara göre yaşayan flep oranları (%)	25
4.2. Yaşayan flep yüzdesi ortalamaları	26
4.3. Geciktirme ve koşullama grupları p değerleri	26
4.4. Geciktirme grupları (Kruskal Wallis)	31
4.5. Koşullama grupları (Kruskal Wallis)	31
4.6. Koşullama grupları ve geciktirme grupları karşılaştırılması (Kruskal Wallis)	31

RESİMLER DİZİNİ

<u>Resim</u>	<u>Sayfa</u>
4.1. Preoperatif flep planlaması	27
4.2. İskemi oluşturmak için sol yüzeysel epigastrik pedikül bağlanarak kesildikten sonra sağ yüzeysel epigastrik pediküle mikroklemp konulması (kontrol grubu)	27
4.3. Geciktirme-1 grubuna ait rat fotoğrafı ikinci operasyondan sonra 7. gün	28
4.4. Geciktirme-2 grubuna ait rat fotoğrafı ikinci operasyondan sonra 7. gün	28
4.5. Geciktirme-3 grubuna ait rat fotoğrafı ikinci operasyondan sonra 7. gün	29
4.6. İskemik önkoşullama grubuna ait rat fotoğrafı operasyondan sonra 7. gün	29
4.7. İskemik ardkoşullama grubuna ait rat fotoğrafı operasyondan sonra 7. gün	30
4.8. İskemik önkoşullama+ardkoşullama grubuna ait rat fotoğrafı operasyondan sonra 7. gün	30
4.9. Yaşayan flep dokusunun ölçülmesi	31

1. GİRİŞ ve AMAÇ

Doku defektlerinin onarımında çeşitli flepler tanımlanarak uzun yıllardır kullanılıyor olmasına rağmen, onarım sonrası flepte oluşabilecek nekrozlar hakkında kesin bilgiler henüz bulunmamaktadır (1). Nekroz sebebi olarak tanımlanan iskemi ya da iskemi/reperfüzyon hasarı rekonstrüktif cerrahide halen ciddi problemdir. Doku onarımında çeşitli çalışmalarda bildirilen sonuçlara göre yapılan serbest fleplerde %90 ve üzerinde başarı bildirilmişse de, pediküllü fleplerde %25'e varan tam ya da kısmi nekroz oranları görülebilmektedir (2-4). Serbest doku transferi işlemi sırasında besleyici damarların kesilmesi ve anastomoz yapılarak revaskülarizasyonun sağlanması arasında genellikle doku canlılığını tehdit edecek iskemi süresi oluşmaz. Ancak serbest doku kaldırılması ya da anastomozu sırasında oluşabilecek sorunlar, operasyon sonrası arter veya ven akımının herhangi bir nedenden engellenmesi gibi sorunlara bağlı oluşan dolaşımın sağlanamaması ya da durması nedeniyle iskemi süresi kritik düzeye ulaşabilmekte ve sonucunda revaskülarizasyon yapılsa bile flepte kayıp gözlenebilmektedir. Rekonstrüksiyon amacı ile kullanılan flepte ortaya çıkan nekroz zaman zaman fonksiyonel ve/veya estetik komplikasyonları da beraberinde getirecektir. Rekonstrüksiyon için uygulanan fleplerde oluşan nekroz ile ilişkili komplikasyonların tedavisi hasta için ek operasyon, stres, artmış hastane kalış süresi ve maliyet bazen de tedavinin tam olarak başarısızlığı anlamına gelmektedir (3,5-8). Bundan dolayı rekonstrüktif cerrahide flep sağkalımının artırılması ile cerrahi başarıyı artıracaktır.

Rekonstrüktif cerrahide kullanılan fleplerin sağkalımında hasta ile ilgili mikrovasküler hasar oluşturan diyabet gibi sistemik hastalıklar, operasyon bölgesine radyoterapi öyküsü gibi bölgesel vasküler patolojiye neden olan faktörler ya da pıhtılaşma eğilimini artıran hastalıklar gibi faktörler rol oynar. Bunun yanısıra çok bilinen diğer bir etken de cerrahi ile ilgili faktörlerdir. Yetersiz anastomoz tekniği veya cerrahi sırasında oluşturulan vasküler hasarlar flep sağkalımına olumsuz etki gösterir. Hasta ile ilgili faktörler ve cerrahi tekniğin yanısıra iskemi süresi ve iskeminin derinliği de etkin rol oynar. İskemi süresinin uzaması dokunun tolere edemeyeceği seviyede olursa geniş nekroz kaçınılmazdır (9). Ayrıca belli bir süreden sonra tekrar kan akımı sağlansa bile nekroz oluşum süreci artarak devam etmektedir (10). Serbest doku aktarımları sonrasında meydana gelen doku nekrozunda iskemi/reperfüzyon hasarı ve oluşan serbest radikallerin önemli bir pay sahibi oldukları bilinmektedir (5).

Reperfüzyon hasarı iskemi tarafından indüklenen ve reperfüzyon tarafından tetiklenen bir mekanizma ile meydana gelmektedir ve çeşitli hücre ölüm mekanizmalarını tetikleyebilmektedir (11,12). Reperfüzyon tarafından tetiklenen hücre ölüm mekanizmaları tam olarak aydınlatılamamış olsa da, oksidatif stres sonrası açığa çıkan reaktif oksijen ürünlerinin akut inflamatuvar cevabı başlatarak sitokinlerin salınımına, yüzey adhezyon moleküllerinin salınımını artırarak endotel ve nötrofillerin aktivasyonuna, iskemi sonrası inflamasyonun başlamasına ve devam etmesine neden olan proinflamatuvar genlerin artışına neden olduğu gösterilmiştir (13-15). Ayrıca iskemi/reperfüzyon hasarına bağlı hücre içi Ca^{+2} artışı, reaktif oksijen ürünlerinin salınımı, mitokondriyal permissiyon transisyon porlarının (MPTP) açılması, nitrik oksit (NO) miktarının azalması ve nükleer faktör kappa B (NFκB) geninin artmış aktivitesi hasardan başlıca sorumlu faktörler olduğu da gösterilmiştir (15,16).

Plastik cerrahide flep sağkalım oranlarını artırmak ve nekroz oranını en aza indirmeyi amaçlayan çeşitli uygulamalar klinikte uygulanmaktadır. Bunlardan biri olan “geciktirme (delay)” işlemi çeşitli varyasyonları ile kullanılmaktadır. Vasküler geciktirme yöntemi ile flebi besleyen vasküler yapıların bir kısmı rekonstrüktif operasyondan önce kesilerek flepte göreceli olarak iskemi oluşması amaçlanır. Oluşan iskeminin sonucunda fizyolojik şartlarda kapalı olan choke damarlarının açılmasına, daha sonra kullanılması planlanan vasküler yapılardan iskemi oluşturulan bölgeye daha fazla kan akımı sağlanmasına, flep içindeki damarların yeniden düzenlenmesine, angiogenezis ile yeni damarların oluşmasına ve damar çaplarının artmasına neden olmaktadır (17-21).

Flep sağkalım oranlarının artırılması ile yapılan geciktirme yönteminin öne çıkan dezavantajı ikinci bir cerrahi girişime ihtiyaç duyulmasıdır. Geciktirme metodunun yerine alternatif yöntemler üzerine çalışmalar yapılmıştır.

Murry ve arkadaşları köpek kalbinde yaptıkları deneysel çalışmada koroner artere klempleme yapılarak oluşturulan kısa iskemi periyotları ve bunu takiben doku reperfüzyonları ile kalp kasının daha uzun iskemik periyoda dayanıklılığının ve yaşayabilirliğinin arttığını göstermişlerdir. Böylece ilk kez iskemik önkoşullamanın (preconditioning) doku üzerine olan koruyucu etkisi deneysel olarak gösterilmiştir (22). Daha sonra da önkoşullama uygulanması ile çeşitli fleplerin sağkalım miktarının arttığına dair çok sayıda çalışma yapılmıştır (23-28).

İskemik önkoşullamanın en basit tanımı dokuya iskemi sürecinden önce letal olmayan kısa iskemi/reperfüzyon periyotları uygulanması işlemidir. Bu işlem dokunun daha sonra karşılaşacağı uzun iskemiye bağlı hasara karşı direnç sağlar. İskemik önkoşullama; koruyucu etkisini hemen gösteren ‘erken faz’ ve etkisini 24 saat sonra gösterip birkaç gün sürebilen ‘geç faz’ olarak adlandırılan iki fazlı bir fenomendir (29,30). Erken faz, iskemik önkoşullamanın hemen sonrasında başlayan ve 4 saat kadar etkisini sürdüren; geç faz ise önkoşullamadan yaklaşık 24 saat sonra başlayıp 72 saat süreyle etki gösteren bir mekanizma ile işlev gösterir (31-33).

İskemik önkoşullama olumlu bulgularından yola çıkılarak iskemi reperfüzyon hasarını önlemek için klinikte daha uygulanabilir farklı pratik yöntemler üzerine çalışmalar yapılmıştır. Zhao ve arkadaşları tarafından yapılan çalışmada köpek kalbi modelinde iskemik önkoşullama ve iskemik ardkoşullama grubunun kontrol grubuna göre anlamlı oranda myokard enfarkt alanının azaltılabildiğinin gösterilmesi ile iskemi reperfüzyon hasarı üzerine ardkoşullamanın olumlu etkisi ilk kez gösterilmiştir (34). Daha sonra Moon ve arkadaşları tarafından iskemik ardkoşullamanın sıçan epigastrik deri flebinde iskemi reperfüzyon hasarını azalttığını ve flep sağkalımını arttırdığını bildiren çalışma yayınlanmıştır (35).

İskemik ardkoşullama, iskemi sürecini takiben reperfüzyon başlangıcında oluşturulan kısa reperfüzyon/iskemi periyotları uygulanması olarak tanımlanabilir. İskemik ardkoşullamada uygulanan periyotlar iskemik önkoşullama protokolündeki gibi değil iskemi sonrası saniyeler içinde başlatılarak kısa süreli sikluslar olarak uygulanması gereklidir.

Çalışmamızda sıçan epigastrik deri flebinde iskemik önkoşullama ve iskemik ardkoşullamanın ayrı ayrı ve birlikte kullanımı ile üç farklı geciktirme metodunun flep sağkalımı üzerine etkilerinin değerlendirilmesi ve birbirleri ile karşılaştırılması amaçlandı. Geciktirme metodları olarak ilk grupta planlanan flebin sadece deri adasının kesilmesi, ikinci grupta sadece karşı pedikülün kesilmesi, üçüncü grupta ise her iki işlemin birlikte uygulanması şeklinde planlandı. Bu sebeple çalışmamızda flep yüzey alanlarının makroskopik ölçümü yapılarak yaşayan flep alanın tüm flep alanına oranı hesaplandı, mikrovasküler angiografi ile flep içi damar ağı, damar yoğunluğu ve oluşan kollaterallerin gösterilmesi ve karşılaştırılması amaçlanmıştır.

2. GENEL BİLGİLER

Rekonstrüktif cerrahide yıllardır çeşitli flepler kullanılmaktadır. Hatta rekonstrüksiyon amacına bağlı olarak büyük boşlukları doldurmak için bazen yüksek hacimli veya büyük bir alanı kapatacak şekilde geniş flep kullanımına ihtiyaç duyulmaktadır. Bu amaçla da lokal random ve aksiyel flepler veya serbest flepler kullanılabilir.

Çeşitli görüntüleme yöntemleri ve diseksiyon çalışmaları sayesinde tüm vücut dolaşım sistemi daha iyi tanımlanabilmiş, fleplerin vasküler yapıları daha iyi belirlenmiş ve özellikle geniş deri adası bulunduran flep planlanırken en yüksek sağkalım başarısı elde etmek amacıyla daha iyi tasarlanması sağlanabilmiştir. Bilimsel ilerlemelere, cerrahi ve deneysel tecrübelerin artmasına rağmen flepte iskemi veya iskemi/reperfüzyon hasarı nedeni ile oluşan parsiyel ve total nekrozlar plastik cerrahide büyük sorun teşkil etmeye devam etmektedir (36).

Flep cerrahisi sırasında hazırlanan flepte sempatik sinir liflerinin kesilmesi sonucu oluşan nörotransmitter deşarjı flebe ait tüm damarlarda vazokonstrüksiyona neden olur (37). Rat kremaster kas flebinde yapılan bir çalışmada flep kaldırılmadan genitofemoral sinir kesilmiş, iliak ve femoral damarların adventisyası sıyrılarak yapılan sempatektomi prosedürü ile mikrodolaşımda dinamik, trifazik cevapların meydana geldiği bildirilmiştir. Başlangıçta oluşan akut hiperadrenerjik fazı, belirgin bir vazodilatasyonun görüldüğü adrenerjik olmayan faz ile artmış kapiller perfüzyonun meydana geldiği sürecin izlediği, son fazda ise vazoaaktif maddelere aşırı duyarlılık olduğu gözlenmiştir (38). Flep kaldırıldıktan sonra da bir takım hemodinamik değişiklikler meydana gelmektedir. Kaldırılan flep tamamen serbest hale getirilmeyip pedikül kan akımı korunuyor olsa bile flep distalinde kan akımı, kaldırıldıktan sonraki ilk 6-12 saatte normale göre yaklaşık %80 azalır (39,40). Ancak yine de flep distal bölgelerinin yaşayabilmesi için kan akımı yeterli miktarda ve 6-12 saat süresince devam etmelidir. Distal bölgeler 6-12 saat süreyle ciddi seviyede iskemiye maruz kalır ve bu süreden sonra kan akımı tekrar sağlanırsa dokuda reperfüzyon hasarı oluşur. Bu hasar sonucu mikrodolaşım bozulur, iskemi dolaylı olarak derinleşir ve doku nekrozu meydana gelir. İskemi sonrası 12-18 saat; ilerleyen lökosit aracılı endotel hasarı, sempatik vazokonstrüktörlerin salınımı ve perfüzyon basıncının düşmesinden dolayı, özellikle

flep distal kısımlarında kan akımı hızlı bir şekilde ve belirgin oranda düşer (41,42). Dokuda oluşan bu reperfüzyon hasarı iskemi süresi ile paralellik göstermektedir (43).

Dokunun ihtiyacına göre yetersiz kan akımı sağlanması, iskeminin basit bir tanımı olarak ifade edilebilir. İskemi sırasında dokuda oluşan değişimler kapiller daralma, dokuda lökosit artışı, endotel hücrelerde fonksiyon bozukluğu ve enflamatuvar mediyatörlerin artışından sorumlu enzim sistemlerinin aktivasyonu şeklinde özetlenebilir ve bu olaylar iskemi süresince artarak devam eder (44). Dokuya yetersiz oksijen gitmesinden dolayı hücre içi oksijen tükenir. Tükenen oksijen nedeni ile hücresel enerji ihtiyacı aerobik solunum yolları kullanılamayarak anaerobik enerji üretim yoluna geçiş yapılır. Anaerobik metabolizma sırasında hücrede laktat birikimi meydana gelir. Bunun neticesine ise hücre pH'ı düşer ve hücre içi asidoz olur(45). Anaerobik solunum nedeniyle adenosin trifosfat (ATP) üretimi azalır ve bunun sonucunda gerçekleşen ATP konsantrasyonunun azalması hücre membranında bulunan aktif Na^+/K^+ kanallarının fonksiyonunun yavaşlamasına ve hücre içi Na^+ miktarının artmasına neden olur. Hiperosmolar hale gelen hücreye sıvı çekilir ve hücrenin şişmesi ile sonuçlanır. Böylece hücre işlev göremez hale gelir. Ayrıca hücre membran geçirgenliği de bozularak hücre içi Ca^{+2} iyonlarının artmasına neden olur (46). Hücre içinde artan Ca^{+2} ise ikincil haberci olarak, hücre yıkımından sorumlu çeşitli enzimlerin ve proinflamatuvar sitokinlerin hücre içinde artışına neden olur (47). ATP azalmasına Ca^{+2} 'un da eşlik ettiği bu durumda hücre bütünlüğü devamlılığını sürdüremez hale gelir. Hücre kapasitesini aşan iskemi durumları nekroz ile sonuçlanır (48). Dokuların iskemi nedeni ile oluşacak nekrozdaki kurtulması ya da nekrozun sınırlandırılması, iskeminin sonlandırılması yani kan akımının tekrar sağlanması yani 'reperfüzyon'u ile mümkündür. Ancak reperfüzyon neticesinde iskemik dokularda 'iskemi/reperfüzyon hasarı' olarak tanımlanan başka bir istenmeyen sonucun ortaya çıkmasına neden olarak geri dönüşümsüz hasarlanan hücrelerin yanında ilave hücre kayıpları da ortaya çıkar (49).

Hücre ölüm mekanizmaları tam olarak anlaşılamamış olmasına rağmen iskemi/reperfüzyon sürecinde üretilen ve oksijenden türeyen serbest radikallerden olan süperoksit anyon (O_2^-), hidrojen peroksit (H_2O_2) ve hidroksil radikali ($\text{OH}^\cdot$) hücre hasarında temel rol üstlendiği bilinmektedir (5,49-54). Serbest radikaller dış yörüngelerinde çiftleşmemiş tek bir elektron bulunduran kimyasal türevlerdir. Son derece değişken olup kolayca organik ve inorganik kimyasallarla reaksiyona girerler.

Hücrelerde olduğu zaman özellikle nükleik asitler ve çeşitli membran molekülleri ile etkileşerek onları parçalarlar. Hücre ölümüne neden olan, DNA'da tekiplik kırılmaları ve membran lipid peroksidasyonu meydana getirir (49). Reaktif oksijen ürünleri akut inflamatuvar cevabı başlatarak sitokinlerin salınımına, yüzey adhezyon moleküllerinin salınımının artmasına neden olarak endotel hücreleri ve nötrofillerin aktivasyonuna, iskemi sonrası inflamasyonun başlamasına ve devam etmesine neden olan proinflamatuvar genlerin artışına neden olur (15). Reaktif oksijen ürünlerinin konsantrasyonları antioksidan aktiviteleri olan bazı enzimler tarafından dengede tutulmaktadır. Glutasyon, süperoksit dismutaz (SOD) ve katalaz gibi enzimler tarafından reaktif oksijen ürünleri oldukça sıkı bir şekilde regüle edilir (49).

Endotel, iskemi sonrası süperoksit radikallerinin üretiminde ana kaynaktır (55). Fizyolojik şartlarda O_2^- zararlı etkileri SOD tarafından H_2O_2 'e çevrilerek önlenir (49,50,56,57). Uzun süreli iskemi sırasında bu doğal koruyucu mekanizmaların kapasiteleri aşılır ve reperfüzyon sonrası H_2O_2 , $OH^\cdot$ ne dönüşür. Dokuda oluşan $OH^\cdot$ leri ise hücrenin canlılığını devam ettirmesi için gerekli olan aminoasitler, membran transport proteinleri, sitokrom enzimleri ve nükleik asitler gibi birçok moleküle zarar verebilirler (58,59).

İskemi reperfüzyon hasarında trombositler, endotel hücreleri ve diğer lökositler tarafından üretilen kemotaktik mediyatörler tarafından nötrofiller enflamatuvar alana çekilirler (60). Nötrofiller aktive olduklarında ise endotel adhezyon molekülleri olan selektinlere bağlanarak vasküler endotelyuma yapışır ve interstisyel aralığa geçerler. Hücreler arası boşluğa geçen nötrofiller sitoplazmik granüllerinde bulunan proteolitik enzimler salgırlar, serbest oksijen radikalleri üretilir ve muhtemelen mikrodolaşımda mekanik obstrüksiyon oluşturarak fonksiyonel kapillerlerin kapanmasına neden olurlar (61). Bu olayların neticesinde de trombozisi gelişir ve no-reflow fenomeni olarak adlandırılan mekanizma ortaya çıkmış olur (52). No-reflow fenomeni reperfüzyon esnasında oluşan ilerleyici vasküler hasar ve genişleyen yetersiz kan akımına sahip bölgeden oluşmaktadır. No-reflow fenomeninde oluşan bu geri dönüşümsüz durum ve hücrelerin şişmesi, damar içi agregasyon ve interstisyel aralığa damar içi sıvının kaçıışı sonucu geliştiği bildirilmiştir (62). Bu mekanizmadan dolayı nötrofillerin iskemi reperfüzyon hasarında tetikleyici rol oynadıkları düşünülmektedir. Klinikte ise transfer edilen dokuda bu olaylar reperfüzyon sonrası geri dönüşümlü ya da kalıcı iskemi ile sonuçlanır (63).

Diğer taraftan endotel iyi bilinen bir iskemi reperfüzyon hasarı koruyucu mediyatörü olan NO üretir (64). NO; endotel hücreleri, makrofajlar ve polimorfonükleer lökositler tarafından, L-argininin guanidyum grubundan nitrik oksit sentaz (NOS) enzimi ile sentezlenen ve yarılanma zamanı 3-5 saniye olan labil bir radikal gazdır. De novo olarak da L-arginin, moleküler oksijen nikotinamid adenin dinükleotid fosfattan (NADPH) NOS tarafından sentezlenir. Endotelden endotelyal nitrik oksit sentaz (eNOS) tarafından sentezlendiğinde siklik guanozin monofosfatın (cGMP) artışına ve sonuçta da vazodilatasyona neden olan guanilat siklazın aktivasyonuna neden olur (49). İskemi reperfüzyon hasarında da ortaya çıkan ilk olay endotel hücre disfonksiyonudur ve sonunda NO sentezi azalır (65). NO, damarsal tonusun, trombosit agregasyonunun, lökosit-endotel etkileşimlerinin fizyolojik kontrolünde etkilidir. Serbest oksijen radikallerinin temizlenmesinde, normal vasküler geçirgenliğin sağlanmasında, düz kas proliferasyonunun inhibisyonunda, immun yanıtta ve endotel hücrelerinin rejenerasyonunda etkilidir (53,54).

İn vitro çalışmalarda NO'nın nötrofil adhezyonu inhibisyonu yaptığı ve bunun sonucu olarak direkt nötrofiller üzerine etkili ajanların, iskemi/reperfüzyon hasarını azalttığı gösterilmiştir (66). Deneysel bir çalışmada NO prekürsörü olan L-arginin, ratlarda iskemik deri ada fleplerinde reperfüzyondan hemen önce intraperitoneal verilerek dokuyu iskemi reperfüzyon hasarına karşı korumuş ve ilk 24 saat içinde alınan flep doku örneklerinde nötrofil sayısını anlamlı ölçüde azalttığı görülmüştür (67). Buna benzer başka bir deneysel çalışmada da rat kremaster denerve kas flebi ile yapılan bir çalışma eksojen NO'nın erken reperfüzyon sırasında mikrodolaşımı düzelttiğini ve reperfüzyon hasarına karşı koruyucu olduğunu bildirilmiştir (68). Deri ve kas-deri fleplerinde dışarıdan verilen intraarteryel NO infüzyonunun da iskemi reperfüzyon hasarına karşı flep sağ-kalımını arttırdığı gösterilmiştir (69). NO yetersizliği vazokonstriksiyona neden olur ve lümende mikrotrombüslerin oluşumuna yol açar. Bu durum da nötrofillerin endotele yapışması ile birleştiğinde no-reflow fenomeninin ortaya çıkmasına neden olur (16).

Mitokondriler iç ve dış membranı olan hücrede oksidatif fosforilasyonla ATP üretimi yapan yani hücre içi enerji sağlayan organellerdir. Mitokondri iç membranı bulundurduğu elektron transport zinciri (ETZ) sayesinde oksidatif fosforilasyon ile enerji üretiminin gerçekleştiği yapıdır (70). Hücrede iskemi süresininuzaması ile oksidatif fosforilasyonun gerçekleştiği elektron transport komplekslerinin yapısında

bulunan elemanlar deformasyona uğramaya başlar. Tüm bu elektron komplekslerinde 1 saatlik sıcak iskemi ile aktivitelerinde azalma görülür. ETZ'nde iskemiden en fazla etkilenen yapılar da kompleks 1 (NADH dehidrojenaz) ve kompleks 3 (CoQH2-c redüktaz) olarak bildirilmiştir (71). İskeminin sonlandırılması ve bunun sonucu olarak ortamda tekrar O₂'nin varlığı ile başlayan oksidatif fosforilasyon ile birlikte zarar görmüş elektron komplekslerinin efektif çalışmaması, ETZ'nden elektron kaçışına neden olarak reaktif oksijen ürünlerinin ortaya çıkmasına yol açar (53,54). Ayrıca hücre içi Ca⁺² konsantrasyonunun kontrolsüz biçimde artması iç mitokondri membranında bulunan MPTP'lerinin açılmasına neden olur (72). Bir çalışmada MPTP'lerinin fizyolojik şartlarda ve iskemi sırasında bile kapalı kaldığını, ancak reperfüzyon sonrasında açıldıklarını ve porların açılması ile mitokondri iç membranının depolarize olarak proton gradyentinin mitokondriyel membrandan geçişini sağlayarak ATP üretiminin azalmasına neden olduğu, ayrıca popototik yolları aktive eden sitokrom c ve diğer proapoptotik faktörlerin mitokondriden sitozol içine sızarak apoptotik yolların tetiklenmesinde rol oynadığı bildirilmiştir (73).

İskemi/reperfüzyon hasar mekanizmasında ilk oluşan değişikliklerden birisi de kompleman sisteminin aktivasyonudur. Kompleman sisteminin aktivasyonu klasik yol denilen C1'in antijen antikor kompleksine fiksasyonu ile tetiklenen yol ile ya da alternatif yol olarak adlandırılan bakteriyel polisakkaritler, kompleks polisakkaritler ya da kümelenmiş IgA'nın tetikleyici rol oynadığı mekanizma ile gerçekleşebilir. Tüm bu yollarda C3 konvertaz ile C3, C3a ve C3b'ye parçalanır. C3b ise C3b konvertaz kompleksine bağlanarak C5 konvertazı oluşturur. Bu da C5'i, güçlü bir proinflamatuvar mediyatör olan C5a ve C5b'ye parçalar. C5b ise C6-9 komplemanları ile birleşerek C5b-9 membran saldırı kompleksi (MAC) adı verilen yapı oluşur ve fizyolojik şartlarda invaze mikroorganizma olan hedef hücrenin membranında porlar açarak inaktive eder (49). İlk olarak Hill ve Ward tarafından sıçan miyokard modeli reperfüzyon hasarında C3a ve C5a serbestleştiğini ve akut inflamasyon ajanı olarak görüldüğünü bildirmişler (74). İskemi/reperfüzyon hasarında C5 aktivasyonundan sonra ortaya çıkan C5a ve C5b-9 kompleksinin nötrofiller ile birlikte sorumlu olduğunu gösteren çalışmalar mevcuttur (75). Bu nedenle sıçanlarda miyokard iskemi reperfüzyon hasarı çalışmasında kompleman yollarının C5 üzerinden aktivasyonunun engellenmesi ile C3 birikimine rağmen belirgin olarak nötrofil infiltrasyonunu, hücre nekrozunu ve hücre apoptozu inhibe edilebilmiştir (76). Daha sonra ise anti-C5 monoklonal antikoru ve C5a reseptör

antagonistleri ile sıçan ince barsak iskemi reperfüzyon hasarı modelinde çalışmalar yapılmış. Hem C5'in hem de C5a'nın bloke edilmesi ile iskemi reperfüzyona bağlı sistemik enflamatuvar ajanların ve ince barsak ödeminin azaldığı sonuçta ince barsak hasarının azalması ile sonuçlandığı gösterilmiştir (77,78). Başka çalışmalarda çözünebilir kompleman reseptör tip 1'in (sCR1) in vivo rat myokardiyal iskemi reperfüzyon modellerinde, intestinal iskemi reperfüzyon hasarında, deneysel hayvan çalışmalarında akciğer ve karaciğer transplantasyonu modellerinde ve iskelet kasında koruyucu etkileri olduğu gösterilmiştir (79-84). Kompleman aktivasyonunun klasik yolu inhibe etmek amaçlı kullanılan C1 esteraz inhibitörleri ile myokardiyal iskemi reperfüzyon hasarında endotel adhezyon molekülleri baskılanarak doğrudan nötrofil aracılı iskemi reperfüzyon hasarı ile oluşan kardiyonekrozun azaltılabildiği gösterilmiştir (85).

Klinik uygulamalara bakıldığında pratikte iskemi süresinin ve iskemi/reperfüzyon hasarının en fazla dikkate alınması gereken cerrahi işlemlere örnek olarak transplantasyonlar, replantasyonlar ve serbest flep operasyonları sayılabilir. Rekonstrüktif cerrahide kullanılan serbest doku transferlerinde iskemi iki farklı şekilde ile ortaya çıkabilmektedir. Serbest flebin ana pedikülü kesilerek yapılan anastomozlar açılıp revaskülarizasyonu tamamlanıncaya kadar kaldığı iskemi birincil iskemi olarak adlandırılmaktadır. Ciddi bir problem ile karşılaşılmadığı takdirde bu süre birkaç saati geçmez ve flep için ciddi bir tehdit oluşturmaz. İkincil iskemi ise, revaskülarizasyondan sonra ortaya çıkabilen trombüs, kıvrılmaya da hematoma kaynaklı oklüzyona bağlı oluşan iskemik periyottur (86,87). Flep kayıpları da genellikle ikincil iskemi nedeni ile meydana gelmektedir. Hayvan çalışmalarında deri fleplerinin ikincil iskemiye birincil iskemiden daha az dayanıklı oldukları gösterilmiştir (87,88). Oluşan patolojik durumun oldukça erken ortadan kaldırılarak kan akımının sağlanması reperfüzyon hasarının önlenmesinde ya da azaltılmasında oldukça önemlidir (49).

İskemi reperfüzyon hasarı klinikte ayrıca, koroner arter hastalıkları, tromboembolik tedavi, balon anjiyoplasti, kardiyopulmoner bypass gibi kardiyak olaylarda, tıkalı arter hastalıkları, stroke, turnike uygulaması gibi sistemik ya da bölgesel iskemiye neden olan geçici arteriyel yetersizlikleri gibi durumlarda ortaya çıkabilen bir patolojidir (36).

Yapılan çalışmalar flep başarısızlığının en sık nedenleri olarak uygunsuz anastomoz ile birlikte diyabet, cerrahi bölgenin daha önce radyoterapi almış olması,

geçirilmiş lenf disseksiyonu, sigara kullanımı, operasyonun zamanlaması nedeni ile optimal olmayışı ya da altta yatan ateroskleroz, hipotansiyon veya hiperkoagülabilité gibi oklüzyona yatkınlık oluşturan patolojiler gibi sistemik problemler olduğunu göstermektedir (36,89,90). 240 vakalık retrospektif bir çalışmada mikrovasküler meme rekonstrüksiyonu operasyonu sonrası flep kurtarma cerrahisi uygulanan ve literatürde %1-5 arasında flep nekrozu ile sonuçlanan anastomoz yetersizliği prevalansı bu seride %3,8 olarak bildirilmiştir. Bu çalışmada özellikle hasta seçimi ve dikkatli cerrahi ile serbest flep başarı oranının artırılabilmesine vurgu yapılmıştır (89). Ayrıca anastomoz yetersizliği sadece operasyon esnasında değil, cerrahi sonrası flebin pozisyonuna bağlı damarların kıvrılması, besleyici pediküle ya da flebe baskı oluşturan hematoma, pedikülü sıkıştırarak şekilde gergin yara kapatımı ve pansuman baskısı gibi damarlara dışarıdan mekanik bası nedeni ile de gelişebileceği göz önünde tutulmalıdır (90).

2.1. Geciktirme Prosedürü

Flep cerrahisi esnasında meydana gelen parsiyel nekroz çoğunlukla arteriyel yetmezliğe bağlı gelişmektedir (91). Arteriyel yetmezliğin önlenmesi ya da azaltılması için cerrahi geciktirme işlemi flep sağkalımını deneysel ve klinik olarak arttırdığı bilinen bir yöntemdir. Cerrahi geciktirme işlemi flebin kısmi olarak deri insizyonu yapılması, kaldırılması ya da belirlenen flebin iki pedikülü var ise pediküllerden birinin kesilmesi ile flep distalinde nekroza yol açmayacak kadar iskemi oluşturulmaktadır. Akut ve ciddi oksidatif stres oluşturmada yapılan geciktirme yöntemi sonucunda kompensasyon mekanizmaları devreye girer ve flebin tamamı akut olarak kaldırıldığında oluşması beklenen distal nekrozun geciktirme sonrasında oluşmadığı çok sayıda çalışmada gösterilmiştir (20,21,92).

Vasküler geciktirme ya da geciktirme fenomeni erken ve geç dönem etkileri bulunan flep vaskülaritesini artırmak için kullanılan bir metoddur. Böylece flep sağkalımı, random patern fleplerde boy/genişlik oranının artırılması, aksiyel paternli fleplerde de aktarılan doku alan ve hacminin artırılabilmesine olanak sağlar (93-95).

Cerrahi geciktirme fenomeni erken döneminde vasküler yapıların kesilmesi ile oluşan rölatif olarak azalan kan miktarı ile birlikte cerrahi işleme bağlı açığa çıkan adrenerjik maddelerin oluşturduğu geçici hiperadrenerjik sistem flebi dokuyu besleyen arterlerde vazokonstriksiyon oluşmasına neden olur. Ortaya çıkan akut olaylar ortama salınan adrenerjiklerin tüketilerek azaltılması nedeni ile sonlanır. Hem azalmış vasküler

yatak, hem de cerrahi sonrası oluşan vazokonstrüksiyona bağlı iskemi dokuda kan ihtiyacının artmasına neden olur. Hiperadrenerjik durumun ortadan kalkması vazodilatasyonun gerçekleşmesine neden olur. Böylece mevcut vasküler sistemden dokuya gelen kan miktarında artış sağlanarak azalmış vasküler yapı kompanse edilir. Kalan vasküler yatakta meydana gelen vazodilatasyon hipertrofi ve hiperplazi ile kalıcı bir dönüşüm olarak sebat eder (96).

Geciktirme metodunda ortaya çıkan kompensasyon mekanizmalarından bir diğeri de yeni damar oluşumudur. Yeni damar oluşumu vaskülogenez ve anjiogenez olmak üzere iki farklı süreç ile ortaya çıkabilmektedir. Vaskülogenez kemik iliği kökenli endotelyal öncü hücreler aracılığı ile yeni damarların oluşmasıdır. Vasküler hasarlanma, iskemi ve yanık gibi faktörler endotel öncü hücrelerinin aktivasyonu ve dolaşımda artışı için güçlü uyaranlardır. Bu durumda hücre artışına dolaşımda bulunan vasküler endotelyal büyüme faktörü (VEGF) miktarı artış eşlik etmektedir (97). Anjiogenez oluşum mekanizması mevcut kapiller ağdan mikrovasküler yapıların tomurcuklanarak meydana gelmesidir. Bu özelliği de novo oluşan vaskülogenezden temel farkıdır. Anjiogenezin çeşitli faktörler tarafından uyarılır ancak en önemlileri olarak mevcut damarlarda vazodilatasyon ve vasküler geçirgenliğin artmasına da neden olan temel fibroblast büyüme faktörü (bFGF) ve vasküler endotelyal büyüme faktörüdür (VEGF). Bu faktörlerin açığa çıkması ile olarak ana damar bazal membranı proteolitik yıkımla parçalanır ve kapiller tomurcuklanma oluşur. Ana damardan endoteller tomurcuklanan yapının içine göç ederek yeniden düzenlenir ve proliferer olarak yeni oluşan vasküler yapıyı matür hale getirir (49). Geciktirme uygulanan dokularda anjiyogenezi tetikleyen bFGF ve VEGF'nin arttığı ve yeni damarların oluştuğu gösterilmiştir (98). Cerrahi geciktirme boyunca belirtilen faktörlerin yükseliş gösterdiği ve iskeminin durumuna göre 21 güne kadar yüksek seviyelerde kaldığı bildirilmiştir (96).

Geciktirme işlemi sonrası erken dönem sonuçlarından birisi de adrenerjik sistemden bağımsız gelişen mevcut ancak kapalı choke damarlarının açılarak genişlemesi ve damarların yeniden düzenlenmesidir (18,19). Anatomik çalışmalar geciktirme uygulanan fleplerde damarların arttığı ve flep aksına paralel olarak yeniden düzenlendiğini göstermiştir (96). Cerrahi geciktirme sonrası en fazla anatomik değişimin vasküler anjiyozomlar arasında kalan bölgede bulunan choke damarlarında olduğu deneysel çalışmada gösterilmiştir. Bu yüzden farklı anatomik anjiyozom

bölgelerinin kullanılacağı fleplerde ise cerrahi geciktirmenin flep sağkalımını artırmak için faydalı olacağı belirtilmiştir (18,19).

Geciktirme işleminin geç dönem metabolik etkisi araşidonik asit metabolitlerinin artması ile gerçekleşir. 14 günlük geciktirme sonunda ise dokuda artmış PGE2 seviyesi ve bununla paralel artmış flep sağkalımı gösterilmiştir (99). Geç dönem geciktirme işlemi incelemelerinde artmış yeni damar oluşumu gözlenmiştir (100-102).

Geciktirme işleminde flep nekrozunun en efektif şekilde azaltılması için aksiyel damarlarının kesilmesi gerektiğini bildirilmektedir (21). Flebin aksiyel damarlarının kesilmesi ile oluşan kısmi iskeminin, sonradan iskemiye karşı koruyuculuğun uyarılmasındaki kritik rolü vurgulanmıştır. Bu şekilde işlem gerçekleştirildiğinde flep distal kısımdaki yaşayabilirlik artacak, daha uzun ve geniş flep hazırlanmasına olanak sağlayacaktır (18,19,103). Transvers rektus abdominis kas-deri flebi yapılacak yüksek riskli hasta grubunda uygulanan derin ve yüzeysel epigastrik arterlerin ve bir venin bağlanması ile 14 hastaya uygulanan cerrahi geciktirme yöntemi sonrası süperior epigastrik arter çap ve akımında artış, ayrıca yüksek riskli hasta grubu olmasına rağmen herhangi bir majör ya da rekonstrükte edilen memede estetik bozukluk oluşturacak oranda nekroz ile karşılaşılması bildirilmiştir (104).

Cerrahi geciktirmenin dezavantajlarından kurtulmak için farmakolojik ajanlar ile cerrahi olmayan geciktirme yöntemlerini değerlendiren çok sayıda çalışma mevcuttur. Sempatolitik ajanlar, vazodilatörler, kalsiyum kanal blokerleri, prostaglandin inhibitörleri, antikoagülanlar, adenoazin, monofosforil lipid A, growth hormon, glukokortikoidler ve minoksidil ile ilgili çalışmalar mevcuttur ancak yan etkilerinin bulunması ve sonuçlarının cerrahi geciktirme kadar efektif olmaması nedeni ile yaygın kabul görmemektedir (98,105,106).

Hayvan modellerinde, geciktirme yapılarak flep yaşayabilirliğinin artırıldığı kesin bir şekilde gösterilmesine rağmen flep elevasyonundan 7-14 gün önce iskemi oluşturmak amacıyla ek bir cerrahi girişim daha gerektirmesi mevcut en büyük problemdir (93). Pratik uygulamada ikinci bir cerrahi işlem gerektiriyor olsa da geciktirme işlemi kullanılmaya devam etmektedir ve alternatif olacak uygulamalar üzerinde araştırmalar sürmektedir.

2.2. İskemik Önkoşullama

İskemik önkoşullama dokuya, uzun iskemiye maruz kalmasından önce letal olmayan kısa iskemik periyotların uygulanması işlemidir. Bu işlem dokunun daha sonra karşılaşacağı uzun iskemiye bağlı oluşacak reperfüzyon ile ilişkili oluşabilecek hasara karşı direnç sağladığı belirtilmektedir (92).

Murry ve arkadaşlarının köpekler üzerinde yaptıkları deneysel çalışmalar iskemik önkoşullama üzerine yapılan ilk uygulama olarak bildirilmiştir. Bu çalışmada ilk grupta koroner artere 4 siklus olacak şekilde 5 dakika iskemi ve 5 dakika reperfüzyon uygulanmış ve daha sonra kalp 40 dakika iskemiye maruz bırakılmış, çalışmanın kontrol grubunda ise kalbe İskemik önkoşullama yapmadan direkt iskemi uygulanmıştır. Aynı çalışmada üçüncü bir gruba belirtilen önkoşullama protokolünden sonra 3 saatlik iskemi uygulanmış ve kontrol grubunda da aynı şekilde önkoşullama uygulanmadan 3 saatlik iskemi uygulanmış. Sonuçta, iskemik önkoşullama yapılan ve 40 dakika iskemide tutulan grupta enfarkt alanının, kontrol grubuna göre daha az olduğu bulunmuş. Ancak 3 saat iskemi uygulanan grupta ise anlamlı fark bulunamamış. Bu fenomen iskemik önkoşullama olarak tanımlanmıştır (22).

İskemik önkoşullamanın iskelet kas flebinde koruyucu etkisi ise ilk olarak Mounsey tarafından bildirilmiştir. Yapılan deneysel çalışmada domuz sırtında hazırlanan latissimus dorsi kas flebine, 10 dakikalık iskemi ve reperfüzyon döngüleri olacak şekilde 3 siklus iskemik önkoşullama yapılmış ve daha sonra flepler 4 saat sıcak iskemide tutulmuş. Bu çalışmada, iskemik önkoşullama yapılan kas flebinde nekroz oranının anlamlı oranda daha az olduğu gösterilmiştir (41). Başka bir çalışmada domuz latissimus dorsi kas flebi kaldırılmadan önce iskemik önkoşullama yaparak, kas flebinde nekrozun %44 oranında azaldığını göstermişlerdir (23). Rat arka ekstremitesinde 1, 2 ve 3 siklus iskemik önkoşullama yapılarak rat extensor digitorum longus kasının gücü, kontraktilesi, performansı ve dayanıklılığının değerlendirildiği bir başka çalışma yapılmış ve 3 siklus iskemik önkoşullama yapılan grubun iskemik önkoşullama yapılmayan gruba göre postiskemik tüm fonksiyonlarının anlamlı derece daha iyi seviyede olduğu gösterilmiştir. Böylece iskemik önkoşullama ile sadece kas flep yaşayabilirliği değil, aynı zamanda fonksiyonların da korunduğu bu çalışma ile gösterilmiştir (107). İskemik önkoşullama ile ilgili yapılan benzer bir çalışma da reperfüzyon hasarında iskemik toleransın kas lifi tipine göre de değişiklik gösterdiği bildirilmiştir (108).

İskemik önkoşullamanın dokuyu koruma mekanizması ile ilgili belirsizlikler tam olarak çözülebilmüş değildir. Rat random sırt flebinde yapılan bir deneysel çalışma fleplerin distalindeki nötrofil ürünlerinin, oksidan oluşumlarının belirgin oranda iskemik önkoşullama sonrası azaldığı, kontrol grubunda öngörüldüğü şekilde oluşan deri nekrozuna ise önkoşullama yapılan grupta karşılaşılmadığı gösterilmiş (109). Proteinlerin fosforilasyonuna neden olarak ATP duyarlı potasyum kanallarının (KATP) açık kalmasını sağlayan bir ürün olan Protein Kinaz C'nin (PKC) aktive olması ile hücrel korunmanın sağlandığı iddia edilmiş ve preiskemik adenoazin uygulanmasıyla iskemik önkoşullama benzeri etkinin oluşması ve tersi durumda yani adenoazin reseptör antagonistlerince etkinin önlenmesi çalışmalarla desteklenmiştir (44,110,111).

İskemik önkoşullama etki mekanizmasına yönelik yapılan başka çalışmalarda koruyucu etkisini iki ayrı fazda gösterdiği gözlenmiştir. Rat latissimus dorsi kas flebi çalışma modelinde, iskemik önkoşullama yapıldıktan hemen sonra flebin iskemiye maruz bırakılması ve iskemik önkoşullama yapıldıktan 24 saat sonra flebin iskemiye maruz bırakılması sonucunda oluşan kas nekroz oranları ile sadece iskemiye maruz bırakılan kontrol grubu karşılaştırılmış. Sonuçta iskemik önkoşullama'nın erken dönemde ve geç dönemde koruyucu etki gösterdiği görülmüş (112). Erken fazın koruyucu etkisinin, iskemik önkoşullamanın hemen sonrasında başlayıp 4 saate kadar uzadığı; bazı mediyatörlerin serbestleşmesi ve kompleks sinyal yollarının aktivasyonu sonucu gerçekleştiği geç fazın ise iskemik önkoşullama işleminden 12-24 saat sonra başlayıp ve 3-4 gün etkisinin sürdüğü sonraki çalışmalarla gösterilmiş, iskemik önkoşullamanın erken ve geç fazda farklı koruyucu etkisi olduğu gösterilmiştir (31-33,39,41,113-115). İskemik önkoşullama üzerine yapılan bir çalışmada erken faz koruyucu etki ile sadece miyokardın ölümü engellenirken, geç faz koruyucu etki ile miyokard ölümüne ilaveten miyokard fonksiyonu da korunmaktadır. Bu nedenle iskemik önkoşullamanın miyokardı uzun dönemde (48-72 saat) iskemik olaylardan daha iyi koruduğu anlaşılmıştır. Bu koruyucu mekanizmalardaki temel fark ise iskemik önkoşullamanın erken fazında var olan proteinlerde değişiklik görülürken, geç fazında dokuda yeni hücre koruyucu proteinler sentez edilmektedir(116).

İskemik önkoşullamanın deri ve kas-deri flepleri üzerine olan etkisi ilk olarak Zahir ve arkadaşları tarafından bildirilmiştir. Ratlarda yapılan bu çalışmada, deri flebi modeli olarak ratın sırtından kaldırılan deri flebini ve kas-deri flebi modeli olarak rektus abdominis kas-deri flebini kullanılmış. 10 dakika iskemi ve 10 dakika reperfüzyon

siklusu 3 kez yapılarak uygulanan iskemik önkoşullama işlemi sonrasında 1 saatlik perfüzyona izin verilmiş ve ardından flep pedikülü klemplenerek gruplara sırasıyla 0, 2, 4, 6, 10 ve 14 saat iskemi uygulanmış. Çalışmanın sonunda 6 saat ve daha uzun iskemi uygulanan gruplarda koruyucu etki gözlemlenmiştir. Bu etki kas flebinde ise 2, 4, 6 ve 10 saatlik iskemi gruplarında gözlenmiştir. İskemik önkoşullama yapılarak flebin %50'sinin tamamen nekroza gittiği iskemi zamanı kritik iskemi zamanı olarak değerlendirilmiş ve deri flep modelinde bu süre 6,9 saatten 12,4 saate ve kas-deri flebinde ise 3,6 saatten 9,2 saate yükseltildiği gösterilmiştir (117).

Cerrahi alanda uygulanacak iskemik önkoşullama için alternatif bir yöntem olarak uzak iskemik önkoşullama üzerinde çeşitli çalışmalar yapılmıştır. İskemik önkoşullamanın uzak bölgelerde de koruyucu etkisinin olduğunu gösteren sonuçlara ulaşıldığı bildirilmiştir. Bu konuda bildirilen ilk çalışmalardan biri olan ve köpek kalp modelinde bölgesel iskemik önkoşullama yapılarak uzak myokardiyumun etkilenip etkilenmediği araştırılmış. Sol sirkümfleks koroner artere iskemik önkoşullama yaptıktan sonra, sol anterior inen koroner artere iskemi uygulanmış. Sol anterior inen koroner arterin beslediği bölgede de iskemik önkoşullama koruyucu etki gösterdiği gözlenmiştir (118). Daha sonra ekstremitelere uygulanan uzak iskemik önkoşullama ile kalp ve adipokütan flep üzerinde elde edilen olumlu sonuçları gösteren çalışmalar bildirilmiştir (119-121).

Bazı farmakolojik ajanlar aracılığıyla iskemi/reperfüzyon hasarını azaltmaya yönelik önkoşullama çalışmaları yapılmıştır. Farmakolojik önkoşullama olarak tanımlanan bu işlem ilaçlar üzerinden reperfüzyon hasarını azaltmak için iskemi/reperfüzyon hasarı öncesi verilen bazı ilaçların, reperfüzyon hasarını azaltması olarak bilinmektedir (120). Şimdiye kadar çoğunlukla kalp üzerinde farmakolojik iskemik önkoşullama yaptığı gösterilebilen ajanlara örnek olarak adenosin, protein kinaz aktivatörleri, bradikinin, anjiyotensin dönüştürücü enzim (ACE) inhibitörleri ve anjiyotensin 1 (AT1) agonistleri, endotelin, ısı-şok proteinleri, opioidler, glukagon peptid like 1 (GPL-1), atriyel natriüretik peptid (ANP), eritropoetin gibi hücre reseptörleri üzerinden etki gösteren ilaçların farmakolojik önkoşullama ile kardiyoprotektif etki sağladıkları gösterilmiştir (115, 123-132). İntraselüler yolaklar üzerinden koruyucu etki gösteren ajanlara örnek olarak halotane, sevoflurane, desflurane, enflurane, isoflurane gibi volatil anestezikler, insülin, monofosforil lipid A, fosfodiseteraz inhibitörleri (PDEI), atorvastatin sayılabilir (133-139). İmmünsüpresan bir ajan olan ve MPTP

formasyonunu engelleyerek koruyucu etki sağladığı gösterilen siklosporin de ayrı bir grup olarak değerlendirilebilir (140). Ayrıca siklooksijenaz 2 antagonistleri ve KATP kanalını kapatan ilaçlar, PKC inhibitörleri kullanılması ile iskemik önkoşullamanın koruyucu etkileri ortadan kalkmaktadır (141-143).

Rekonstrüktif cerrahi ile ilgili de farmakolojik önkoşullama çalışmaları yapılmıştır. Opioidler, siklosporin, FK-506, adenoazin ile yapılan deneysel çalışmalarda farmakolojik önkoşullama sonuçlarının olduğu gösterilmiştir (129,140,143). Random deri flepleri ve pediküllü iskelet kas fleplerinde monofosforil lipid A kullanılarak yapılan çalışmada ilacın nekroz azaltıcı etkisini önkoşullamanın geç fazını taklit ederek hücre içi sinyal araçlarının tetiklenmesine ve NO artışına bağlı olarak gösterdiği belirtilmiştir (29).

Rekonstrüktif cerrahi klinik uygulamalarına bakıldığında; total flep nekrozu sonucu flep kaybı çok sık olmamasına rağmen parsiyel nekroz ile sıklıkla karşılaşılır. Literatürde en çok tartışılan fleplerden biri olan pediküllü transvers rektus abdominis flebinde parsiyel nekroz ile %30 gibi büyük bir sıklıkla karşılaşılmaktadır. Radyoterapi hikayesi, diabet ve sigara içimi gibi komorbiditelerin varlığında bu oran daha da artmaktadır. Bu komplikasyonun iskemik önkoşullama ile önemli ölçüde azaltılabileceği düşünülmektedir. Klinik bir çalışmada pediküllü Transvers rektus abdominis kas-deri flebi uygulanan 5'i yüksek 1'i düşük olmak üzere 6 riskli hastada iskemik önkoşullama uygulanarak olumlu sonuçlar alındığı bildirilmiştir (144). Yayınlanan başka bir klinik çalışmada ciddi el yaralanması olan 12 hastaya uygulanan pediküllü inguinal flepler ile ortalama flep ayrılma zamanı geleneksel yöntemle ortalama 28,7 gün iken, iskemik önkoşullama yapılarak bu sürenin 8,4 güne indirildiğini ve sadece iliak kemik kullanılan 1 hastada parsiyel nekroz geliştiğini ve başarı oranının %90 olduğunu bildirmişlerdir (145).

Çok sayıda yapılan hayvan çalışmaları ve düşük hasta sayılı klinik çalışmalar mevcuttur. Olumlu sonuçlara rağmen iskemi ya da nekroz olasılığının önceden kestirilemiyor olması nedeni ile iskemik önkoşullamanın klinik etkinliğini değerlendiren geniş katılımlı çalışmalar bildirilmemiştir. Ayrıca cerrahi işlem esnasında uygulanacak daha önce tanımlanan iskemi reperfüzyon periyotları, mevcut farklı protokollerinin operasyon süresinde belirgin oranda artış sağlayacağından klinikte uygulaması oldukça sınırlı kalmaktadır ve geniş çevrelerde kabul görmemektedir.

Farmakolojik önkoşullama ajanlarının ise flep sağkalımına olumlu etkilerine rağmen yan etkileri kullanımlarını sınırlandırmaktadır.

2.3. İskemik Ardkoşullama

İskemik önkoşullama reperfüzyon hasarından korunmada etkisi gösterilmiş bir yöntem olmasına rağmen, iskemiden önce uygulanması gerekliliği ve protokolün uzun sürmesi bu prosedürün klinikte uygulanmasını zor bir hale getirmektedir (146). Pratik uygulamasının zor olması nedeni ile araştırmacılar iskemik önkoşullamaya alternatif çözümler üzerinde çalışmalar yapmışlardır. 2003 yılında iskemik önkoşullamaya alternatif bir yöntem olarak iskemik ardkoşullama tariflenmiş. Uzamış iskemi sonrasında reperfüzyon sağlanırken, bunun tekrarlayan iskemi/reperfüzyon siklusları halinde yapılarak reperfüzyon hasarına karşı olumlu sonuçları bildirilmiştir. Zhao ve arkadaşları tarafından ilk olarak iskemik ardkoşullama işlemi ile in vivo köpek kalbinde enfarkt boyutunun, iskemik önkoşullama ile benzer ölçüde azaltılması ile gösterilmiştir. Bu modelde iskemik ardkoşullama 30 saniyelik reperfüzyon/iskemi döngüleri halinde 3 ardışık periyot olarak uygulanmış ve risk alanında kontrol grubuna göre, iskemik önkoşullama uygulanan grup ile birlikte anlamlı ölçüde nötrofil birikimini azalttığı, koroner endotel fonksiyonunu koruduğu, reaktif oksijen ürünlerini ve oksidatif hasarı azalttığı gösterilmiştir (34).

Sıçan karın flebinde iskemik ardkoşullamanın flep sağkalımı üzerine etkisibaşka bir deneysel çalışmada gösterilmiştir. Moon ve arkadaşları tarafından yapılan bu çalışmada 4 saatlik tam iskemi sonrası reperfüzyonun hemen başlangıcında 15 saniyelik reperfüzyon ve 15 saniyelik iskemi 6 döngü halinde uygulanmış. Bu çalışmada iskemik ardkoşullama iskemi reperfüzyon hasarında görülen patofizyolojik olayları azaltmış ve iskemi sonrası 3. günde ölçülen myeloperoksidaz düzeyleri kontrol grubuna göre anlamlı oranda düşük bulunmuştur (35).

İskemik ardkoşullama hayvan modellerine göre de farklılık gösterebilmektedir. Ayrı bir husus da iskeminin sonlanması ile iskemik ardkoşullama uygulamasının başlatılması arasında geçen süredir. Bazı araştırmacıların iskemik ardkoşullamayı reperfüzyonun başlamasından bir süre sonra başarı ile uyguladıklarını bildirmelerine rağmen genel kabul edilen görüş iskemiden hemen sonra uygulanması gerektiğidir (148). İskemik ardkoşullama ile ilgili bu konuda yapılan bir çalışmada erken

ardkoşullama protokolü ile 1 dakikalık reperfüzyon uygulaması sonrası yapılan ardkoşullama protokolü karşılaştırılmış. Sıçan kalbinde iskemik ardkoşullama uygulayan Kin ve arkadaşları deney gruplarında erken ardkoşullama yapılan reperfüzyondan hemen sonra başlanan 3x10 saniye ve 6x10 saniyelik döngüler halinde iskemi ve reperfüzyon uygulanan ve de 1 dakika reperfüzyona izin verildikten sonra 3x10 saniye ardkoşullama uygulanan üçüncü grup olarak belirlenmiş. İlk iki grupta enfarkt alanında azalma, kreatinin kinaz aktivitesinde, nötrofil birikiminde, oksidatif hasar ve süperoksit anyon oluşumunda azalma olduğunu bildirmişler. Ancak geç ardkoşullama uygulanan grupta ise bu koruyucu etkinin kaybolduğu gösterilmiş. Sonuç olarak iskemik ardkoşullamanın iskemiden hemen sonra uygulanması gereken ve reperfüzyon sırasında 1 dakikalık gecikmede bile etkinliği kaybolan bir protokol olduğu vurgulanmıştır (149).

Reperfüzyon/iskemi döngülerinin süreleri de sonuç üzerinde önemli farklılıklar gösterir. Ardkoşullama ile ilgili iskemi ve reperfüzyon periyodları arasında farklı uygulamalar bildirilmiştir. Genellikle uygulanan döngü sürelerinin 60 saniyeden fazla olmamasına rağmen iskemik ardkoşullama etkilerinin elde edilmesi bu sürelerle oldukça duyarlı olduğu ile ilgili çalışmalar bildirilmiştir (146). İskemik reperfüzyon döngüleri halinde 3x10 saniye, 6x10 saniye ve 3x30 saniye şeklinde uygulamalar ile efektif bir ardkoşullama sağlandığı bildirilmiştir (149,150). Farklı iskemi reperfüzyon periyotlarının karşılaştırılması amaçlı yapılan bir ardkoşullama çalışmasında ise 6x15 saniye, 6x30 saniye ve 6x60 saniye arasında karşılaştırma yapılmış, bu çalışmada 6x30 saniye iskemi reperfüzyon siklusları ile en iyi sonuç alındığı bildirilmiştir (151). Farklı tür hayvanlarda ve farklı dokularda alınan ardkoşullama sonuçları aynı olmadığı için tanımlanmış standart bir protokol mevcut değildir.

Yapılan çalışmalar, nötrofil birikimini intraselüler ve mitokondriyel kalsiyum yükünün azaltarak reperfüzyon hasarı kurtarma kinaz (RISK) yolları aracılığı ile MPTP'ların reperfüzyon sürecinde açılmasını engelleyerek serbest oksijen radikallerinin azaltarak koruyucu etki sağladığını göstermiştir (34, 113, 152). Bir tavşan modelinde yapılan deneysel çalışmada iskemik ardkoşullamanın mitokondriyel KATP kanallarını, ekstrasellüler sinyal düzenleyici kinaz/protein kinaz B (ERK/Akt) ve NO salınımı aktive ettiği gösterilmiştir (153). Aynı araştırmacının farklı bir çalışmasında da iskemik ardkoşullama'nın koruyucu etkisini PI3 kinaz antagonisti ve guanilil siklaz inhibitörü ile azaltıldığı adenosin reseptör blokeri aracılığı ile de tamamen kaldırıldığı

gösterilmiştir (154). Prospektif randomize kontrollü insan çalışmasında da romatizmal kalp hastalığı nedeni ile kalp kapak replasman cerrahisi uygulanan 60 hasta iki gruba ayrılmış. Kontrol grubuna salin uygulanmış. Çalışma grubuna da adenozin ile farmakolojik ardkoşullama uygulanması sonrası alınan sonuçlara göre ilk 12 ve 24. saatlerde belirgin olarak Troponin I düzeylerinde düşme olduğu bildirilmiştir (155).

İskemik ardkoşullama ile oluşturulan intraselüler asidik ortam mitokondri iç membranında yer alan pH duyarlı hücre ölümünden sorumlu MPTP'ların açılması ile inhibe olarak proapoptotik yolun devreye girmesini engeller (156). İskemik ardkoşullama ayrıca RISK yolağı üzerinden inhibitör fosforilasyonla MPTP açılımı engellenerek koruyucu etki sağladığı bildirilmiştir (148).

İskemik ardkoşullamanın koruyucu yolaklara ek olarak enflamatuvar yanıtı azalttığı ve endotel koruyucu etki gösterdiği bildirilmiştir. İskemik ardkoşullamanın in vivo hayvan kalp modelinde yapılan bir çalışmasında iskemi altına kalan bölgelerde doku ödemi azalttığı ayrıca nötrofil birikimini azaltarak enflamatuvar yanıtı azalttığı gösterilmiştir (150). Ayrıca iskemik ardkoşullama ile ilgili bildirilen ilk çalışmada da iskemi riski altındaki bölgelerde nötrofil birikiminin azaldığı ve koroner arter endotelinde P-selektin seviyelerinin azaltılabildiği ve maksimal endotel aracılı vasküler cevapların belirgin şekilde korunduğu bildirilmiştir (34). Benzer başka bir in vivo çalışmada hiperkolesterolü bulunan ve normal domuzlar iskemik ardkoşullama ile değerlendirilmiş ve sağlıklı endotel bulunduran domuzlarda endotelial fonksiyonları korunarak no-reflow alanını azalttığını destekleyen sonuçlar bulunmuştur (157).

İskemik ardkoşullama ile ilgili deneysel uzak iskemi çalışmalarında da başarılı sonuçlar bildirilmiştir. İnsanlarda yapılan bir çalışma ile 20 dakika ön kola iskemi uygulanmasını takiben 3x30 saniye ve 3x10 saniye iskemi reperfüzyon döngülerinin endotel fonksiyon hasarını belirgin olarak azalttığını bildirmişlerdir (158).

Son zamanlarda yapılan çalışmalarda ardkoşullama ile bazı gen ekspresyonlarının arttığı ve bu genlerinde iskemik ardkoşullamanın koruyucu mekanizmasında rol oynuyor olabileceği bildirilmiştir (159).

İskemik ardkoşullama; doğal koruyucu mekanizmaları aktiflemesi ve klinik olarak reperfüzyon sırasında uygulanabilir bir zaman diliminde meydana gelmesi nedeni ile klinikte uygulanması daha mümkün bir girişim olarak görülmektedir.

3. GEREÇ ve YÖNTEM

Çalışma, Akdeniz Üniversitesi Deney Hayvanları Bakım ve Kullanım Kurulu izni ve onayı alınarak yapılmıştır.

Deney hayvanı olarak, Akdeniz Üniversitesi Deney Hayvanları Birimi tarafından temin edilen ve ağırlıkları 190-220 gram arasında değişen 70 adet Wistar albino cinsi dişi sıçan kullanılmıştır. Deney hayvanları oda ısısında (21-24°C), ayrı ayrı kafeslerde, 12 saat aydınlık – 12 saat karanlık ritmi uygulanan ortamda tutularak deney süresince istedikleri zaman ulaşabilecekleri standart rat yemi ve musluk suyu verilmiştir.

Cerrahi işlem, hayvanlar tartıldıktan sonra genel anestezi uygulanarak yapıldı. Genel anestezi sağlamak amacıyla hayvana 35 mg/kg xylazine ve 10 mg/kg ketamin intraperitoneal olarak verildi. Cerrahi işlem sırasında ihtiyaç olduğu takdirde intramusküler olarak ek doz ketamin yapıldı. Sıçanlarda sağ yüzeysel epigastrik arter pediküllü, 6x3 cm boyutlarında inferior epigastrik deri flebi kaldırıldı. Kontrol grubu, geciktirme grupları ve iskemik önkoşullama gruplarında bulunan sıçanlara 4 saatlik iskemi sağlandıktan yerleştirilen mikroklempli çıkarmak için kısa süreli anestezi amacıyla eterli pamuk bulunan kuvözde kısa süreli anestezi sağlandı.

Çalışmada 70 sıçan kullanıldı. Her grup için 10 sıçan ile çalışıldı. Geciktirme-1 grubunda 2 sıçan flebini yedi ve 1 sıçan deney aşamasında öldü ve bu 3 sıçan çalışmadan çıkarıldı. Geciktirme-2 grubunda 1 sıçan flebini yedi ve 1 sıçan öldü, böylece 2 sıçan çalışmadan çıkarıldı. Geciktirme-3 grubunda ise 1 sıçan flebini yedi ve 9 sıçan çalışmaya dahil edildi. İskemik önkoşullama ile iskemik önkoşullama+iskemik ardkoşullama grubunda 2 sıçan flebini yedi ve bu gruplarda 8 sıçan çalışmada kullanıldı. Kontrol grubunda 1 sıçan flebini yedi, 9 sıçan üzerinden değerlendirme yapılırken iskemik ardkoşullama grubunda ise kayıp olmayıp 10 flep üzerinden değerlendirmeler yapıldı. Flepler kayıt edildikten sonra tariflenen şekilde hesaplanarak yaşayan flep oranları yüzde (%) olarak çıkarıldı

3.1. Kontrol Grubu (n=9)

Sıçanlar kafeslerinden çıkarılarak tartıldıktan sonra gerekli doz ketamin ve xylazin hesaplanarak intraperitoneal enjeksiyon ile genel anestezi sağlandı. Ayak ve kulak sıkıştırma yöntemleri uygulanarak anestezinin derinliğinin yeterli olduğu tespit edildi. Tüm karın bölgesi ksifoiden uyluk üst bölgesine kadar tıraş edildi. Sıçanlar ameliyat

masasına alındı. Ekstremiteler zarar görmeyecek şekilde dört ekstremiteye flaster yapıştırıldı ve flasterlerden enjektör ucu geçirilerek operasyon masasına supin pozisyonunda tespit edildi. Tıraş edilmiş karın bölgesinde aksiyel paternli 6x3 cm inferior epigastrik deri flebi planlandı. Karın derisi povidon iodin emdirilmiş gaz ile temizlendi. Yapılan planlamaya uygun olarak deri flebine pannikulus karnosus da dahil edilerek supramuskuler plandan kaldırıldı. Her iki yüzeysel epigastrik damarlar izole edildi ve her ikisinin de sağlam olduğu gözlemlendikten sonra sol yüzeysel epigastrik damarlar 5/0 ipek sütür ile iki bölgeden bağlandı ve sütürlerin arasından kesildi. Böylece flep dolaşımı sadece sağ yüzeysel epigastrik arterden olması sağlandı. Flepte kanama gözlemi ve pedikülde akımın varlığı tekrar kontrol edildi. Dolaşımın varlığı tespit edildikten sonra pediküle mikrovasküler klemp konuldu ve sonuçta flepte total iskemi oluşturuldu. İskemi başlangıç süresi kaydedildi. Flep 3/0 ipek keskin iğneli sütür ile yerine tekrar dikildi. Röntgen filminden sıçanın boynuna flebe ağzıyla zarar vermesini ya da yemesini önlemek için boyunluk hazırlandı. Boynunu sıkmayacak ayrıca sıçanın flebe ulaşmasını engelleyecek şekilde boynuna takıldı. İnsizyon bölgeleri tekrar povidon iodin emdirilmiş gaz ile temizlendikten sonra sıçan sol lateral dekübit pozisyonunda olacak şekilde kafesine yerleştirildi. İskemi süresi 4 saat oluncaya dek sıçanlara herhangi bir müdahale yapılmadı. 4 saatin sonunda yerleştirilen mikroklempti çıkarmak için kısa süreli anestezi amacıyla, içinde eterli pamuk bulunan kuvözde hareketsiz oluncaya kadar tutuldu. Hayvan hareketsiz olur olmaz kuvözden çıkarıldı. Supin pozisyonunda tekrar ameliyat masasına tespit edildi ve pedikülün olduğu bölgeden 1 cm sütür açılarak mikrovasküler klemp çıkarıldı. Akım kontrol edildi ve kesi hattı tekrar dikildi. Kayıt açısından flep fotoğraflanarak sıçan kafesine tekrar yerleştirildi. Musluk suyu ve standart sıçan yemi, sıçanın her an ulaşabileceği şekilde kafes kapağına yerleştirildi. Ameliyat sonrası analjezi amaçlı musluk suyuna bir defa 1 gram parasetamol konuldu.

3.2. Geciktirme-1 Grubu (n=7)

Geciktirme-1 protokolü uygulanacak olan sıçanlar kontrol grubu gibi anestezi işlemleri, sıçanın ağırlığının ölçümü, operasyon bölgesi hazırlığı yapılarak ameliyat masasına alınarak tespit edildi. Planlanan deri flebinin sınırları tabandan kaldırılmaksızın kesildi ve başka bir işlem uygulamadan tekrar yerine dikildi. Boynuna boyunluk yerleştirildi ve insizyon bölgeleri tekrar temizlendikten sonra sıçan sol lateral

dekübit pozisyonunda olacak şekilde kafesine yerleştirildi. 1 hafta sonra aynı anestezi ve ameliyat öncesi hazırlık işlemleri uygulanarak sıçan supin pozisyonunda ameliyat masasına tespit edildi. Flepler fotoğraflanarak önceki insizyonlar tekrar açıldı. Daha önce belirtildiği gibi flep sağ yüzeyel epigastrik arterden beslenecek şekilde kaldırıldı. Dolaşımın varlığı tespit edildikten sonra sağ yüzeyel epigastrik pediküle mikrovasküler klemp konuldu ve sonuçta flepte total iskemi oluşturuldu. İskemi başlangıç süresi kaydedildi. Flep fotoğraflandı ve insizyon hatları temizlendikten sonra sıçan kafesine belirtilen şekilde yerleştirildi. 4 saat iskemi süresi sonunda eterli pamuk bulunan küvözde anestezisi sağlandı sağ yüzeyel epigastrik pedikül üzerinden 1 cm'lik sütür hattı açıldı ve mikroklemp çıkarıldı, akım kontrol edildi ve insizyon tekrar kapatılarak sıçan kafesine tekrar yerleştirildi.

3.3. Geciktirme-2 Grubu (n=8)

Geciktirme-2 protokolü uygulanacak olan sıçanlar kontrol grubu gibi hazırlanarak ameliyat masasına alındı. Sol kasık bölgesinden yüzeyel epigastrik pedikül üzerinden 1 cm insizyon açıldı ve sol yüzeyel epigastrik damarlar kontrol grubunda anlatıldığı şekilde bağlanarak kesildi. Başka bir işlem uygulamadan insizyon dikildi. 1 hafta sonra aynı anestezi ve ameliyat öncesi hazırlık işlemleri uygulanarak sıçan supin pozisyonunda ameliyat masasına tespit edildi. Karın derisi daha önce anlatıldığı şekilde planlanarak kesildi. Sağ yüzeyel epigastrik pedikül bulundu ve izole edildi. Flep belirtilen plandan kaldırıldı ve pedikül dışında herhangi bir bağlantı bırakılmadı. Dolaşım varlığı kontrol edildi. Kontrol grubunda yapılan iskemi işlemleri uygulandı flep yerine dikildi. İnsizyon hatları temizlendikten sonra boyunluk takılarak sıçan kafesine daha önce belirtilen şekilde yerleştirildi. 4 saat sonra aynı şekilde mikroklemp açılarak akım kontrol edildi ve insizyonlar kapatılarak sıçan kafesine yerleştirildi.

3.4. Geciktirme-3 Grubu (n=9)

Geciktirme-1 protokolü uygulanacak olan sıçanlar kontrol grubu gibi hazırlanarak ameliyat masasına alındı. Planlanan deri flebi kesildi ve her iki yüzeyel epigastrik damarlar bulunarak izole edildi. Damarların izole edilmesinden sonra deri flebi supramusküler plandan tamamen kaldırıldı. Sadece sağ ve sol yüzeyel epigastrik damarlardan beslenmesi sağlandı ve yerine tekrar dikildi. Boynuna boyunluk

yerleştirilerek insizyon bölgeleri temizlendikten sonra sıçan kafesine yerleştirildi. 1 hafta sonra aynı anestezi ve ameliyat öncesi hazırlık işlemleri uygulanarak sıçan supin pozisyonda ameliyat masasına tespit edildi. Flepler fotoğrafı çekildikten ilk operasyonda olduğu gibi sadece epigastrik damarlar bırakılacak şekilde tüm insizyonları tekrar açıldı ve supramusküler plandan kaldırıldı. Sol yüzeysel epigastrik damarlar daha önce anlatıldığı şekilde bağlandı. Sonrasında kontrol grubunda belirtilen şekilde sağ yüzeysel epigastrik pediküle mikroklem্প uygulandı, insizyonlar kapatıldı ve 4 saatlik iskemi sağlandı. 4 saat sonunda pedikül üzerinden açılan insizyon ile mikroklem্প açıldı ve dolaşım tekrar sağlandı. Kesi hattı dikilerek temizlendikten sonra sıçan kafesine belirtilen şekilde yerleştirildi

3.5. İskemik Önkoşullama Grubu (n=8)

İskemik önkoşullama grubunda sıçanlar kontrol grubunda anlatıldığı şekilde anestezi ve ameliyat öncesi işlemleri yapılarak ameliyat masasına tespit edildi. Planlanan şekilde flep kesildi. Flep, her iki yüzeysel epigastrik damarlar izole edildikten sonra karın duvarından supramusküler plandan tamamen kaldırıldı. Sağ yüzeysel epigastrik pedikül kontrol edildikten sonra sol yüzeysel epigastrik damarlardaha önce anlatıldığı şekilde bağlandı. Sağ yüzeysel epigastrik pedikül mikroklem্প konularak total iskemi sağlandı ve 15 dakika süre ile mikroklem্প kapalı tutuldu. 15 dakika sonunda klem্প açılarak flepte perfüzyon sağlandı. Aynı işlemler bir kez daha yapıldı ve ikinci perfüzyon süresinin sonunda pediküle tekrar klem্প konularak iskemi sağlandı. Son iskemi işleminden sonra flep yerine yerleştirilerek insizyonlar kapatıldı, insizyon hatları temizlendi ve sıçanlar daha önce belirtilen şekilde kafeslerine yerleştirildi. 4 saatlik iskemi süresinin sonunda sıçanlara tekrar anestezi verilerek ameliyat masasına tespit edildi. Sağ kasık bölgesinden 1 cm'lik dikiş hattı açılarak mikroklem্প çıkarıldı akım varlığı gözlendi. Sonrasında insizyon tekrar kapatılarak sıçanlar kafeslerine yerleştirildi.

3.6. İskemik Ardkoşullama Grubu (n=10)

İskemik ardkoşullama grubunda sıçanlar kontrol grubunda anlatıldığı şekilde anestezi ve ameliyat öncesi hazırlık işlemleri yapılarak ameliyat masasına tespit edildi. Planlanan şekilde flep kesildi. Flep, her iki yüzeysel epigastrik damarlar izole edildikten sonra supramusküler planda karın duvarından tamamen kaldırıldı. Sağ yüzeysel

epigastrik pedikül dolaşımının varlığı kontrol edildikten sonra sol yüzeysel epigastrik damarlar belirtilen şekilde bağlandı. Sağ yüzeysel epigastrik pedikül mikroklempten konularak total iskemi sağlandı. Flepler yerine yerleştirilerek insizyonlar kapatıldı. Sıçanlar kafeslerine yerleştirildi. 4 saatlik iskemi süresinin sonunda sıçanlara tekrar anestezi verilerek ameliyat masasına tespit edildi. 1 cm'lik dikiş hattı açılarak mikroklempten çıkarıldı akımın varlığı gözlendi. Sonrasında ise mikroklempten ile 6 siklus boyunca 30 saniye kapalı 30 saniye açık olacak şekilde iskemi ve reperfüzyon periyotları oluşturuldu. 6 siklustan sonra akım varlığı tespit edilerek insizyon tekrar kapatıldı ve sıçanlar kafeslerine yerleştirildi.

3.7. İskemik Önkoşullama+ İskemik Ardkoşullama Grubu (n=8)

İskemik önkoşullama ve iskemik ardkoşullama protokollerinin birlikte uygulandığı bu grupta kontrol grubunda anlatıldığı şekilde sıçanlar anestezi ve ameliyat öncesi hazırlık işlemleri yapılarak ameliyat masasına tespit edildi. Planlanan şekilde flep kesildi. Flep, her iki yüzeysel epigastrik damarlar izole edildikten sonra karın duvarından tamamen kaldırıldı. Sağ yüzeysel epigastrik pedikül dolaşımının varlığı kontrol edildikten sonra sol yüzeysel epigastrik pedikül belirtilen şekilde bağlandı. İskemik önkoşullama grubunda anlatıldığı gibi sağ yüzeysel epigastrik pedikül mikroklempten konularak total iskemi sağlandı ve 15 dakika süre ile mikroklempten kapalı tutuldu. 15 dakika sonunda klempten açılarak flepte perfüzyon sağlandı. Dolaşımın olduğu lup ile gözlendi. İkinci 15 dakikanın sonunda tekrar klempten konularak tekrar iskemi sağlandı ve 15 dakika boyunca iskemi devam ettirildi. İkinci iskemi süresinin sonunda klempten açıldı. Pedikülden akım olduğu kontrol edildi ve flepte perfüzyon sağlandı. 15 dakikalık ikinci perfüzyon süresinin sonunda ise pediküle tekrar klempten konularak iskemi sağlandı. Son iskemi işleminden sonra flep yerine yerleştirilerek insizyonlar kapatıldı, insizyon hatları temizlendi ve sıçanlar daha önce belirtilen şekilde kafeslerine yerleştirildi. 4 saatlik iskemi süresinin sonunda sıçanlara tekrar anestezi verilerek ameliyat masasına tespit edildi. 1 cm'lik dikiş hattı açılarak mikroklempler çıkarıldı ve dolaşımın varlığı kontrol edildi. Sonrasında ise ardkoşullama grubunda anlatıldığı şekliyle mikroklempten ile 6 siklus boyunca 30 saniye kapalı 30 saniye açık olacak şekilde iskemi ve reperfüzyon periyotları oluşturuldu. 6. siklustan sonra dolaşım varlığı tekrar tespit edilerek insizyon kapatıldı ve sıçanlar kafeslerine yerleştirildi.

4. BULGULAR

Kontrol grubu, iskemik önkoşullama, iskemik ardkoşullama ve iskemik önkoşullama+iskemik ardkoşullama grupları (1, 5, 6, ve 7. grup) cerrahi işlemden 7 gün sonra geciktirme grupları ise (2, 3 ve 4. grup) ise 7 gün geciktirme prosedürü uygulanmasını takiben iskemi protokolü uygulandığı için ilk işlemden 14 gün sonra sakrifiye edildi. Tüm flepler fotoğrafları çekilerek kayıt altına alındı. Alınan flep fotoğrafları Adobe Photoshop CS6 (Adobe Systems Software Ireland Ltd., California, USA) programında canlı ve nekroz alanları Lasso Tool çizim aracı ile çizilerek Paint Bucket Tool yardımıyla Set Foreground paletinden seçilen kırmızı ve mavi renklere boyandı. Boyanan alan seçili halde iken Window - Histogram paleti Channel bölümünden seçili olan alan rengi belirtilerek pixel ölçümü yapılarak canlı kalan flep kısmı total flep alanına göre yüzdesi hesaplandı.

Yaşayan flep alanının toplam flep alanına yüzde olarak oranı hesaplanılarak gruplar karşılaştırıldı. İstatistiksel değerlendirme için SPSS (Statistical Package for Social Sciences, version 17.0, SPSS Inc., Chicago, USA) yazılımı kullanıldı. İstatistiksel olarak gruplar arasında anlamlı farkı analiz etmek için; ikiden fazla sayıda grupları karşılaştırmak için Kruskal-Wallis testi ve ikili grupları karşılaştırmak için Mann-Whitney U testi kullanıldı. Sonuçlar %5'lik hata payı ($p=0,05$) ile değerlendirildi.

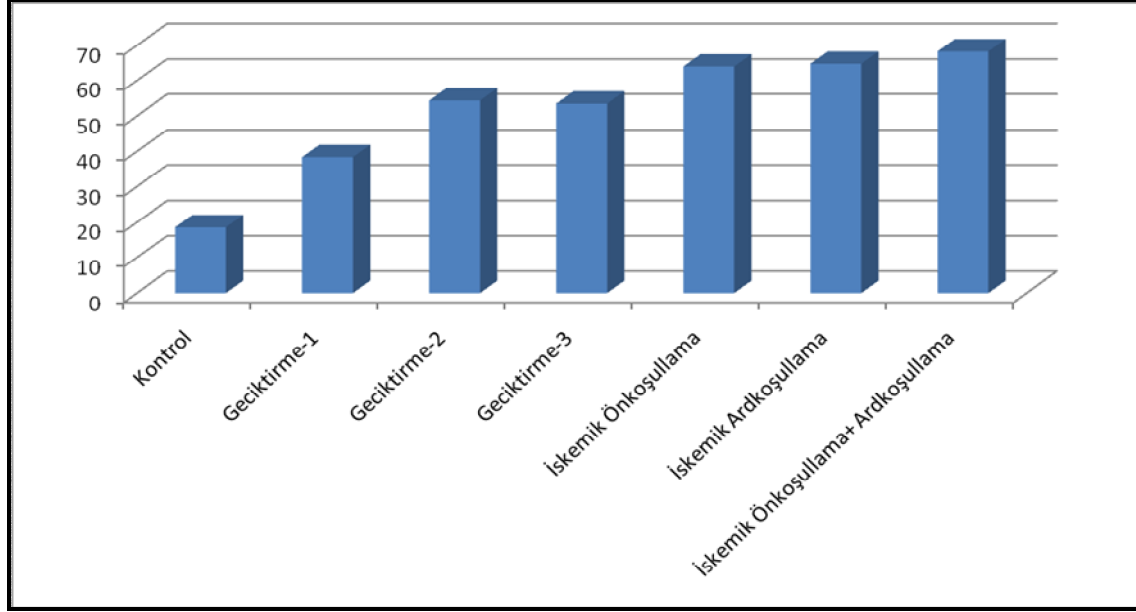
Tablo 4.1. Gruplara göre yaşayan flep oranları (%).

No	Kontrol	Geciktirme 1	Geciktirme 2	Geciktirme 3	İskemik Önkoşullama	İskemik Ardkoşullama	İskemik Önkoşullama+ Ardkoşullama
1	0	41,79	55,15	67,04	72,60	59,21	71,99
2	18,78	42,18	69,47	56,54	55,64	89,92	80,27
3	23,33	55,89	30,07	62,24	57,14	57,11	83,41
4	31,93	36,72	38,58	56,04	57,61	70,38	64,59
5	24,53	50	53,07	44,2	67,7	49,75	57,38
6	19,53	50,67	67,77	46,13	68,22	35,81	65,01
7	0	66,86	64,15	47,63	75,88	66,79	60,89
8	27,54	Flebi yedi	53,13	47,88	57,27	69,88	63,02
9	21,77	Flebi yedi	Flebi yedi	53,49	Flebi yedi	58,91	Flebi yedi
10	Öldü	Öldü	Öldü	Flebi yedi	Flebi yedi	0,87323	Flebi yedi

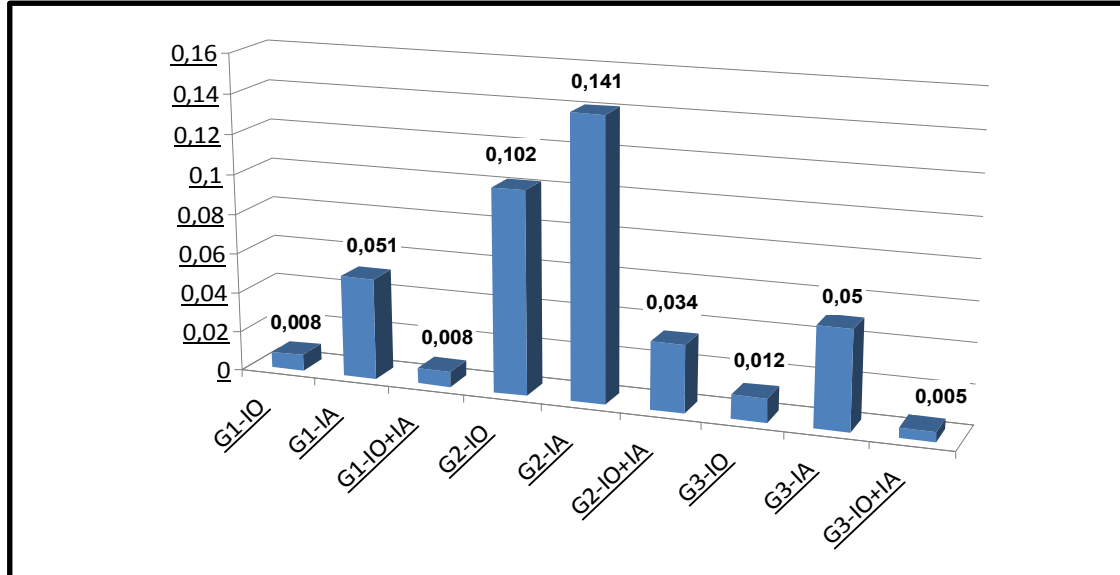
Yaşayan flep alanlarının tüm flep alanına göre yüzdelерinin ortalaması geciktirme-1 grubunda $49,16 \pm 3,84$, geciktirme-2 grubunda $54,34 \pm 4,34$, geciktirme-3 grubunda

%53,47±2,59 ve iskemik önkoşullama grubunda %64,01±2,83, iskemik ardkoşullama grubunda %64,80±5,28, iskemik önkoşullama+iskemik ardkoşullama grubunda %68,32±3,3, kontrol grubunda ise %18,6±3,76 olarak bulunmuştur.

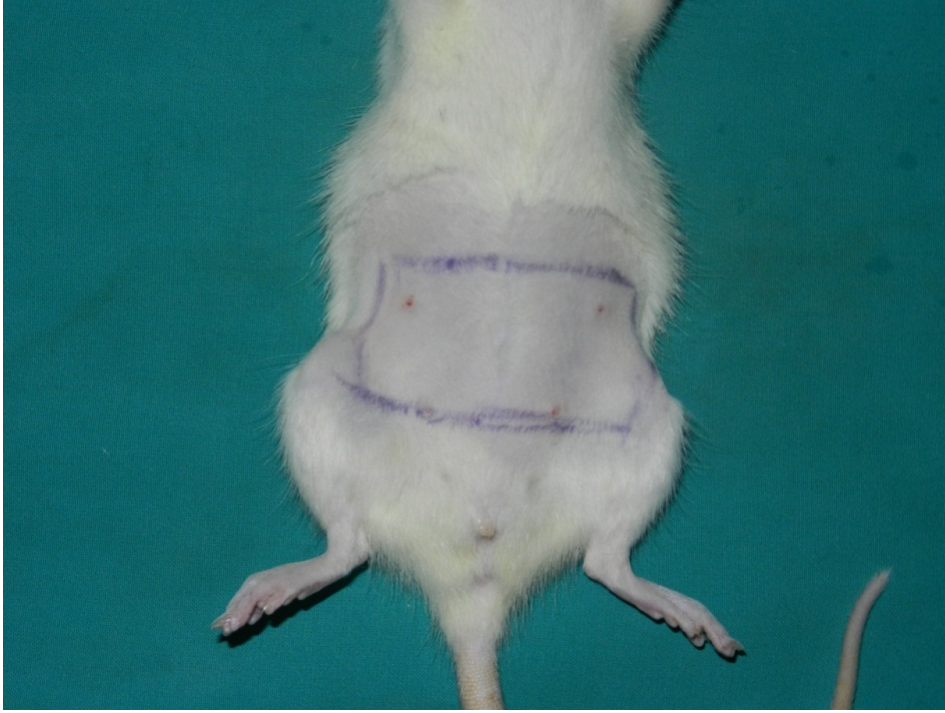
Tablo 4.2. Yaşayan flep yüzdesi ortalamaları.



Tablo 4.3. Geciktirme ve koşullama grupları p değerleri.



(G1-IO=Geciktirme-1 grubu ve iskemik önkoşullama grubu karşılaştırılması, G1-IA=Geciktirme-1 grubu ve iskemik ardkoşullama grubu karşılaştırılması, G1-IO+IA=Geciktirme-1 grubu ve iskemik ön+ardkoşullama grubu karşılaştırılması, G2-IO=Geciktirme-2 grubu ve iskemik önkoşullama grubu karşılaştırılması, G2-IA=Geciktirme-2 grubu ve iskemik ardkoşullama grubu karşılaştırılması, G2-IO+IA=Geciktirme-2 grubu ve iskemik ön+ardkoşullama grubu karşılaştırılması, G3-IO=Geciktirme-3 grubu ve iskemik önkoşullama grubu karşılaştırılması, G3-IO+IA=Geciktirme-3 grubu ve iskemik ön+ardkoşullama grubu karşılaştırılması)



Resim 4.1. Preoperatif flep planlaması.



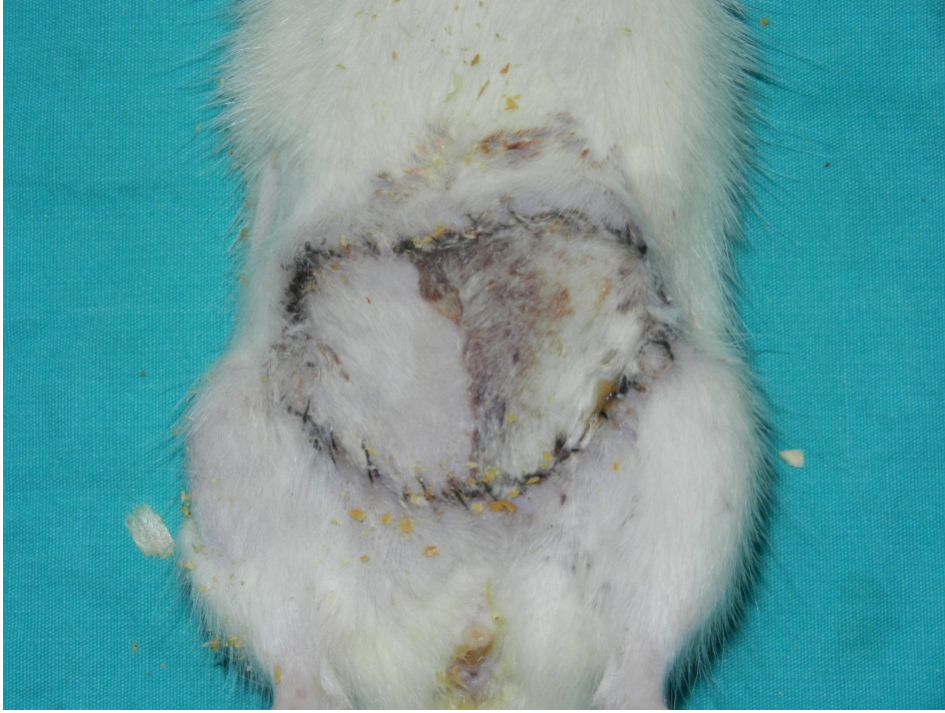
Resim 4.2. İskemi oluşturmak için sol yüzeyel epigastrik pedikül bağlanarak kesildikten sonra sağ yüzeyel epigastrik pediküle mikroklempli konulması (kontrol grubu).



Resim 4.3. Geciktirme-1 grubuna ait rat fotoğrafı ikinci operasyondan sonra 7. gün.



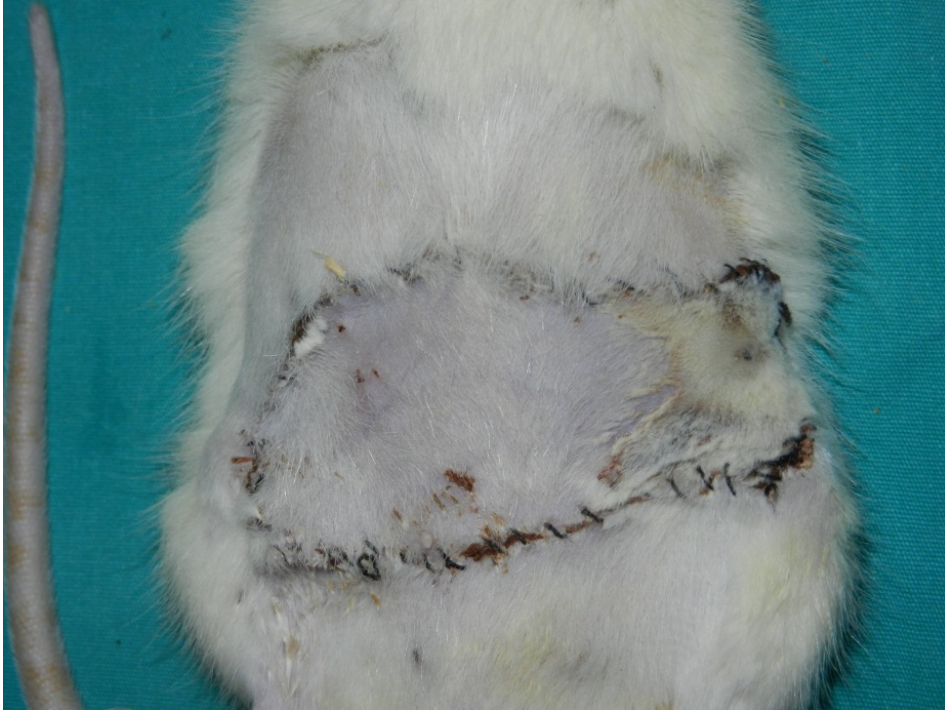
Resim 4.4. Geciktirme-2 grubuna ait rat fotoğrafı ikinci operasyondan sonra 7. gün.



Resim 4.5. Geciktirme-3 grubuna ait rat fotoğrafı ikinci operasyondan sonra 7. gün.



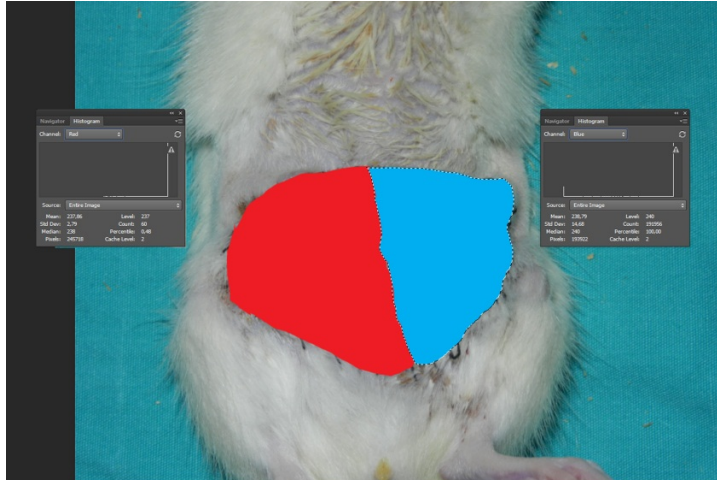
Resim 4.6. İskemik önkoşullama grubuna ait rat fotoğrafı operasyondan sonra 7. gün.



Resim 4.7. İskemik ardkoşullama grubuna ait rat fotoğrafı operasyondan sonra 7. gün.



Resim 4.8. İskemik önkoşullama+ardkoşullama grubuna ait rat fotoğrafı operasyondan sonra 7. gün.



Resim 4.9. Yaşayan flep dokusunun ölçülmesi.

Tablo 4.4. Geciktirme grupları (Kruskal Wallis).

Ranks			
	Grup	N	Mean Rank
Ortalama	Geciktirme-1	7	10,00
	Geciktirme-2	9	14,78
	Geciktirme-3	9	13,56
	Total	25	

Asymp. Sig. (p)	0,419
-----------------	-------

Tablo 4.5. Koşullama grupları (Kruskal Wallis).

Ranks			
	Grup	N	Mean Rank
Ortalama	Ardkoşullama	10	12,90
	Önkoşullama	8	12,25
	Ön+Ardkoşullama	8	15,50
	Total	26	

Asymp. Sig. (p)	0,663
-----------------	-------

Tablo 4.6. Koşullama grupları ve geciktirme grupları karşılaştırılması (Kruskal Wallis).

Ranks			
	Grup	N	Mean Rank
Ortalama	Geciktirme-1	7	13,57
	Geciktirme-2	9	21,44
	Geciktirme-3	9	17,78
	Ardkoşullama	10	31,60
	Önkoşullama	8	33,00
	Ön+Ardkoşullama	8	37,25
	Total	51	

Asymp. Sig. (p)	0,006
-----------------	-------

5. TARTIŞMA

Plastik cerrahide flep kullanımı uzun yıllar önce tarif edilmiştir. Flep ile ilgili komplikasyonlar da flep cerrahisi kadar eskidir. Ancak bilimin ilerlemesine paralel olarak flep kullanımından sonra gelişebilecek komplikasyonlar her geçen gün azaltılmakta ve bu yönde çalışmalar devam etmektedir.

İyi planlanmış bir flep cerrahisinin bile beklenmedik sonuçları olabilir ve en can sıkıcı komplikasyonlardan biri de nekrozdur. Nekroz parsiyel ya da total flep kaybı şeklinde ortaya çıkmaktadır. Serbest fleplerde yüksek oranda başarı sağlanabilmesine rağmen parsiyel ya da total nekroz görülebilmekte, pediküllü fleplerde ise serbest fleplere göre daha yüksek oranlarda parsiyel nekrozlar gelişebilmektedir (2,3,4). Özellikle serbest fleplerde gerçekleşen flep cerrahisinin önlenemez süreçlerinden birisi pedikülün bağlanması ile alıcı damarlara anastomozunun gerçekleşmesine kadar olan süreçte fleplerin iskemiye maruz kalmasıdır. Her dokunun iskemiye karşı direnci farklıdır ve kritik süreç aşıldığı takdirde ise iskemiye bağlı nekroz kaçınılmazdır (30). Rekonstrüktif cerrahide yapılan serbest flep girişimlerinde bu süre çoğunlukla aşılmadan reperfüzyon sağlanabilmektedir.

Daha önce bildirilen çalışma sonuçlarına bakıldığında baş-boyun rekonstrüksiyonu için yapılan 700 serbest doku aktarımında 3 saati aşmayan iskemi süresinin flep sağkalımına etkisinin anlamlı olmadığı gösterilmiş (160). Ayrıca deneysel bir çalışmada epigastrik arter flebi modelinde cilde 4 saat iskemi uygulanmasının ardından reperfüzyon başladığında laser Doppler flowmetre ile flep kan akımının temel flep kan akımının altına indiğini, 1 veya 2 saatlik iskemiye göre flep pedikülündeki arterlerde hiperemi zonunun daha az olduğunu ve bunun da endotel hasarını düşündüren bir bulgu olduğunu bildirilmiştir (161).

Bilindiği gibi, iskemiye bağlı nekrozdaki kurtulmanın yegane yolu ise reperfüzyonun sağlanmasıdır. Ancak reperfüzyon ise uzamış iskemiye maruz kalan dokuda reaktif oksijen radikallerinin meydana gelmesi, reperfüzyonun başlangıcında inflamatuvar benzeri hücrelerin ortaya çıkması ve buna bağlı endotelial disfonksiyon, azalmış endotelial NO üretimi, artmış süperoksitanyon oluşumu, proinflamatuvar sitokin salınımı gibi birçok mekanizmanın dahil olduğu olayların ortaya çıkmasına sebep olur (162,163). Ayrıca uzamış iskemi boyunca glikoliz nedeni ile artan laktik asit hücre içi pH düşmesine neden olur. ATP azalması ile sodyum potasyum pompasının

işlevi yavaşlar, hücre içi sodyum ve kalsiyum azalması ile sonuçlanır. Hücre içi azalan ATP ve artan kalsiyum hücre bütünlüğünü tehdit eder (162). Bu süreç kritik aşamayı geçtiği takdirde doku hasarı kaçınılmaz olacaktır (48). Böylece iskemi/reperfüzyon hasarı denilen bazen dokuda nekroz ile sonuçlanan bir takım metabolik olayların ortaya çıkmasına neden olan olaylar zinciri başlamış olur (36). Kısaca iskemi/reperfüzyon hasarı, iskemi tarafından başlatılan ve sonrasında oluşan reperfüzyon ile tetkilenen mekanizma ile meydana gelir.

Reperfüzyon hasarı ilk olarak köpek kalbinde yapılan deneysel bir çalışma ile gösterilmiş. 90 dakika üzerinde iskemi uygulanan köpek kalp modellerinde hemorajik nekrozlar gözlenmiş. Bunun üzerine 120 aortik kalp kapağı replasmanı hastası retrospektif olarak değerlendirilmiş. Replasman sonrası ölen 25 hastanın otopsi bulgularında 70 dakikadan fazla koroner akımı azalmış hastalarda daha yaygın subendotelial hemorajik nekrozun görüldüğünü ve aortik kapak replasmanı sonrası myokard enfaktüsüne neden olan en sık nedenin reperfüzyon olduğu sonucuna varılmıştır (164).

İskemi reperfüzyon hasarının tanımlanması sonrası özellikle kardiyak girişimler, organ transplantasyonları ya da serbest vaskülerize doku aktarımları gibi cerrahi iskemiye maruz bırakılan dokularda, ekstremiteler ya da diğer organların replantatif girişimleri öncesi iskemi/reperfüzyon hasarını önlemek ya da azaltmak için çok sayıda cerrahi ve farmakolojik çalışmalar yapılmıştır.

Literatürde deneysel iskemi reperfüzyon hasarı alanında en sık kullanılan hayvan olarak sıçanlar görülmektedir. Tercih sebebi olarak da, sıçanların kolay ve hızlı üreyebilmeleri, küçük ve dayanıklı hayvanlar olmaları ve bakımlarının diğer laboratuvar hayvanlarına göre daha kolay olması nedeni ile temel şartlara sahip bir laboratuvar cerrahi araştırmalarının mümkün olmasıdır (165). Deneysel hayvan ünitesinin gerekli temel şartlara sahip olması ve çalışmamıza dahil edilecek hayvan sayısı düşünülerek sıçanlar tercih edilmiştir. Sıçanlar da diğer deney hayvanları gibi biyolojik çeşitlilik göstermektedir. Yapılan çalışmada elde edilecek sonuçların biyolojik çeşitliliğe bağlı olarak değişkenlik göstermemesi için ırk, cinsiyet ve yaşın aynı tutularak homojen bir çalışma grubu kullanıldı. Bu amaçla tüm sıçanların Wistar Albino olmasına, tüm sıçanların dişi olmasına ve ağırlıklarının 190 ile 220 gram arasında olmasına dikkat edilerek çalışma gerçekleştirilmiştir.

Sıçanlarda sık kullanılan deneysel flep modellerinden biri de inferior epigastrik fleptir. Strauch ve Murray tarafından tanımlanan bu flep kolay hazırlanması nedeni ile araştırmalarda yaygın kabul görmüştür (166). Sık kullanılan bu flep için standart bir ölçü ile kullanılmıyor olsa da, lateral sınırın anterior aksiller çizginin arkasına taşmamasına özen gösterilmesi önerilmektedir. Karın derisini kanlandıran en önemli iki kaynak yüzeysel epigastrik damarlardır. İki yandaki bu damarlar korunduğu durumda kosta seviyesinin kraniyaline kadar tüm karın derisi flep olarak kaldırılabilir. Ancak yüzeysel epigastrik damarlardan biri bağlandığında o taraftaki karın derisinin dolaşımı sağlam taraftaki yüzeysel epigastrik arterlere bağımlı hale gelir. Tüm karın derisi tek yüzeysel epigastrik pedikül üzerinde flep haline getirildiğinde bağımlı karın yarımının lateralde kalan bölümü nekroza gider. Flepteki kan dolaşımı değişimlerinin gözlemlendiği çalışmalarda tercih edilen modeller her tarafı iyi kanlanan flepler değildir. Model olarak kullanılan flepte perfüzyonun iyi olduğu bölgenin yanında daha zayıf ve yetersiz kanlanan bölgelerin bulunması, sonuçta da flep ucunda oranı değişkenlik göstermeyen bir nekroz alanı ortaya çıkması önem taşır. Epigastrik arter flebi 1978 yılında geciktirme fenomeni araştırmalarında kullanılmak üzere geliştirilmiştir. İlk tanımlandığında 400 gramlık bir hayvanda 9x9 cm'lik bir flep olarak tanımlanmıştır. Günümüzde araştırmacılar aynı anatomik sınırlara bağlı kalarak daha küçük boyutlarda epigastrik arter flebi hazırlamaktadırlar (167). Çalışmamıza dahil edilen sıçanların ağırlıklarının daha düşük ve homojen olması nedeni ile daha önce tanımlanan 6x3 cm epigastrik arter flebi hazırlanmıştır. Epigastrik arter flebi modeli hazırlanmasının kolay olması, flebin anatomik sınırlarının belirgin olması, tek taraflı pedikül bağlandığında tahmin edilebilir bir karşı taraf nekrozuna sahip olması nedeni ile epigastrik arter flebi çalışmamızda tercih edilmiştir. Çalışma modelinde ise esas olarak kritik iskemi zamanı aşılacak dokuda geri dönüşümsüz olayların başlamasını engellemek ayrıca iskemik dokuda oksijen radikallerinin oluşmasına izin verecek şekilde, daha önce yapılan sıçan deri flebi çalışmalarındaki gibi iskemi süresi 4 saat olarak belirlenmiş ve bu sürenin sonunda reperfüzyon sağlanmıştır (86,168)

Geciktirme prosedürü flep sağkalımını artırmayı hedefleyen bir yöntem olarak kullanılmakta olan bir yöntemdir. Bu yöntem ile random fleplerde boy/en oranını artırmak ya da aksiyel fleplerde yüksek volümlü fleplerin güvenilir bir şekilde kullanılabilmesine olanak sağlanmış olur (96). Farklı cerrahi yöntemler ile kullanılabilen bu prosedürde ortak amaç flep kanlanmasını artırmaktır. Geciktirme

yapılan dokuda sempatik sinirlerin kesilmesi ile ortaya yüksek miktarda noradrenalin salınması ile ilk 30 dakika hiperadrenerjik aktivite meydana gelir ve bunun sonucunda oluşan vazokonstriksiyon rölatif iskemiye neden olur (169). Sonraki süreçte oluşturulan sempatik denervasyonun sonucu ortamda adrenerjik sistemin etkisi azalarak vasküler dilatasyon, kapalı choke damarlarının açılması ve yeniden düzenlenmesi, yeni damar oluşumu gibi bir dizi olaylar meydana gelir (167,170).

Erken dönemde cerrahi geciktirme yapılan dokuların vask leritesinin flep aksına paralel yeniden şekillendiği ve genişledikleri de gösterilmiştir. Kapalı choke damarlarının da en hızlı genişlemeleri, dokuda açığa çıkan vasküler büyüme faktörlerinin etkisi ile 48-96. saatler arası oluşmaktadır (96,170). Bu verilerin ışığında çalışmamızda 3 farklı geciktirme metodu uygulanmıştır. İlk geciktirme grubunda sadece inferior epigastrik deri flebinin planlanan insizyonları tam kat yapılarak tabandan ya da epigastrik damarlardan ayılmaksızın yerine tekrar dikilmiştir. İkinci grupta ise pedikül olarak planlanmayan sol yüzeyel epigastrik damarlar sol kasıktan yapılan 1 cm'lik insizyon ile izole edilerek bağlanmış, üçüncü grupta da ilk iki grubun kombinasyonu şeklinde tüm flebin tüm insizyonları yapılarak tabandan ayırmaksın sol epigastrik damarlar bağlanmıştir. 1 hafta sonra 3 gruba da kontrol grubunda ki ile aynı protokol uygulanarak inferior epigastrik arter deri flebi sağ yüzeyel epigastrik arter tabanlı olarak kaldırılmıştir. Tüm gruplarda da yaşayan flep oranları üzerine kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı derecede olumlu etkileri gözlendi.

İskemi/reperfüzyon hasarını azaltmak için uygulanan iskemik önkoşullama yöntemi ilk olarak Murry tarafından tanımlanan, dokuya iskemi öncesi letal olmayan süre ile iskemi uygulanmasıdır (22). Bu  alışma sonrasında ise iskemik önkoşullama ile flep sağkalımının arttığına dair birçok çalışma mevcuttur (16-21). İskemik önkoşullama erken ve geç olmak üzere iki fazlı protektif etki gösteren bir mekanizmaya sahiptir (114,116). Erken fazda ilk 2-4 saatlik süreçte oluşan kompleks sinyal yolaklarının aktivasyonu ve mevcut proteinler üzerinde gelişen değişiklikler ile etki gösteren, koruyucu bir mekanizma rol oynar (31,33,114). Geç faz ise 12-24 saate başlayıp, 3-4 gün içinde sonlanan, hücre koruyucu yeni proteinlerin sentezlenmesi ile etki gösterdiği saptanmıştır (31-33). İskemik önkoşullama mekanizması tam olarak açıklığa kavuşmamış bir konudur. PKC'nin aktive olması K^+ -ATP kanallarının fosforilasyonuna neden olarak hücresel korunmanın sağlandığı  ne sürülmektedir. Bu görüş, adenosin uygulanmasıyla iskemik önkoşullama benzeri etkinin oluşması ve adenosin reseptör

antagonistlerince etkinin önlenmesini gösteren çalışmalarla desteklenmiştir (44,110,114). Ayrıca NO, ısı-şok proteinleri, adenosin, KATP kanalları, siklooksijenaz-2 ve bradikinin tarafından sinir stimülasyonu iskemik önkoşullama'nın mekanizması içinde yer almaktadırlar (53,54,65,66,120,123,126,141,171).

Adanalı ve arkadaşları iskemik önkoşullama'nın ratta kas flebi üzerinde erken ve geç etkisini araştırmak için yapmış oldukları çalışmada; iskemik önkoşullama'nın erken etkisinin, fonksiyonel kapiller perfüzyonunun, arteriyollerin çapının artmasına ve lökosit aracılı reperfüzyon hasarının azalmasına, geç etkisinin ise, sadece lökosit aracılı reperfüzyon yarananmasının azalmasına bağlı olarak meydana geldiğini göstermişlerdir (31). Bu çalışma Pang ve arkadaşları tarafından domuz latissimus dorsi flebinde yapılan ve sonuçta iskemik önkoşullama artmış kan akımı ile ilişkilidir sonucu bulunan çalışma ile de desteklenmiştir (23). Öte yandan Wang ve arkadaşları yaptıkları çalışmada, iskemik önkoşullama'dan 24 saat sonra, cremaster kas flebinde kapillerlerin ve arteriyollerin çapının arttığını göstermişlerdir (172).

Bizde çalışmamızda daha önce belirtilen ve olumlu sonuçları alınan 2x15 dk iskemi reperfüzyon sikluslarını kullanarak iskemik önkoşullama çalışması yaptık (141). Çalışmamızda uygulanan bu protokol ile iskemik önkoşullama grubunda kontrol grubuna göre anlamlı flep sağkalımının anlamlı oranda arttığını tespit ettik.

İskemik önkoşullama verileri çoğunlukla kalp kası üzerine yapılan çalışmalardan elde edilmiştir. İskelet kası ve deri flepleri ile ilgili çalışma sayısı sınırlı sayıda mevcuttur.

İskemik önkoşullama yönteminde elde edilen olumlu sonuçlara rağmen klinik uygulama zorlukları nedeni ile çalışmaların alternatif metodlar üzerine yönlendirilmesine neden olmuştur (146).

Yapılan çalışmalarda iskemik önkoşullamaya alternatif olarak 2003 yılında Zhao ve arkadaşları tarafından iskemi sürecinin sonrasında kısa iskemi ve reperfüzyon periyotlarının uygulanarak doku sağkalımının artırıldığı gösterilerek ilk kez iskemik ardkoşullama tarif edilmiş. Bu çalışmada iskemi altındaki dokuda ardkoşullama sonrası trombin aktivitesini azaltıcı ve endotel üzerinde koruyucu etki gösterdiği tesbit edilmiştir (34). Sonraki çalışmalarda ise ardkoşullama ile doku ödemi, nötrofil birikimi ve enflamatuvar yanıtın azaldığı gösterilmiştir (146,150).

İskemik ardkoşullamanın, iskemik önkoşullamaya alternatif olarak tanımlanmasından sonra bu yönde yapılan çalışmalarda artış olmuştur ancak iskemi ve

reperfüzyon periyodları için kullanılan zaman protokolleri arasında farklı uygulamalar bildirilmiştir. İskemi reperfüzyon döngüleri halinde 3x10 saniye, 6x10 saniye ve 3x30 saniye şeklinde uygulamalar ile efektif bir ardkoşullama sağlandığı bildirilmiştir (149,150). Daha önce olumlu sonuçlar elde edildiği bildirilen farklı iskemi reperfüzyon periyotlarının karşılaştırıldığı bir iskemik ardkoşullama çalışmasında 6x15 saniye, 6x30 saniye ve 6x60 saniye arasında karşılaştırma yapılmış. Bu çalışmada 6x30 saniye iskemi reperfüzyon siklusları ile en iyi sonuç alındığı bildirilmiştir (151). Biz de çalışmamızda 6x30 saniye iskemi reperfüzyon siklusları olacak şekilde ardkoşullama prosedürü uyguladık.

İskemik önkoşullama ve iskemik ardkoşullama ile birçok çalışma yapılmasına rağmen her ikisinin aynı çalışma grubunda birlikte kullanıldığı çalışma sayısı sınırlıdır. Rat kalbinde yapılan bir çalışmada; sevoflurane ile farmakolojik koşullama uygulanarak iskemik önkoşullama, iskemik ardkoşullama ve her iki protokol kombine edilerek çalışılmış veüç çalışma grubu kıyaslanmış. Sonuçta her üç grupta da doku sağkalımında kontrol grubuna göre artmış bir oran gözlenirse de, iskemik önkoşullama ve iskemik ardkoşullama kombine edilen grupta diğer gruplara göre artı bir fayda bulunamamıştır (173). Bildirilen başka bir çalışmada ex vivo insan rektus kasında iskemik önkoşullama ve ardkoşullamanın birlikte kullanılması ile aditif etki yapmadıkları gözlenmiştir (174).

Çalışmamızda iskemik önkoşullama ve ardkoşullama ayrı bir grup olarak kombine edilerek deri flebinin sağkalımına etkisini araştırdık. Bu grupta önkoşullama ve ardkoşullama protokolleri tek flebe aynı anda uygulandı. Yaşayan flep miktarı bu grupta diğer koşullama gruplarına göre daha yüksek oranda bulunmuş olsa da istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmadı.

Çalışmamızda daha önce de çok sayıda flep cerrahisinde kısmi ve tam flep kaybını azaltmak amacı ile yapılan deneysel çalışmalara paralellik gösteren bir işlem uygulanmıştır. Belirtildiği gibi daha önce tariflenen ve flep sağkalımına olumlu etkileri gösterilen geciktirme ve iskemik koşullama yöntemlerinin iskemi reperfüzyon hasarını azaltmak ve flep sağkalımını artırmak için en uygun yöntemin hangisi olduğunu araştırdık. Flep sağkalımına etkisi daha önce gösterilen ve klinik uygulamalarda sıkça kullanılan bir yöntem olan geciktirme işleminin flep sağkalımına etkisinin daha fazla olması öngörülmekteydi. Yapılan değerlendirmelerde kontrol grubuna göre diğer 6 grup anlamlı olarak flep sağkalımını artırdığı görüldü. Geciktirme metodları ve koşullama metodlarının kendi aralarında çoklu karşılaştırılmasında birbirlerine karşı üstünlükleri

gösterilemedi. Ancak flep sağkalımlarlarında geciktirme metodlarının, koşullama gruplarına göre sayısal olarak daha düşük miktarda artma sağladığı görülmüş, istatistiksel olarak da iskemik önkoşullama ve ardkoşullamanın birlikte uygulanmasının tüm geciktirme yöntemlerinden, sadece önkoşullama yapılan grubun da flep deri insizyonunun yapıldığı geciktirme-1 ve geciktirme-3. gruplarından anlamlı olarak flep sağkalımına olumlu etkileri gözlenmiştir.

Geciktirme metodlarının random ve aksiyel flep dolaşımına olumlu etkilerinin, kapalı choke damarlarının açılması ve aksiyel reorganizasyonun olması flep yaşayabilirliğine olan olumlu etkileri bilinmektedir. Ancak geciktirme ile iyileştirilmiş vasküler yapılar, iskemiye maruz kalan flebin akut dönemde ve kısa sürede fazla miktarda oksijenize kan ile karşılaşmasına, daha fazla serbest oksijen radikallerinin ve reaktif nitrojen ürünlerinin ortaya çıkmasına katkı sağladığı, geciktirme yöntemleri yapılarak iskemi sonrası gelişen reperfüzyon esnasında artmış bir iskemi reperfüzyon hasarı oluştuğunu düşündürmektedir. Sonuçta iskemik dokunun akut dönemde daha fazla oksijenize kan ile karşılaşması sonucu kontrol grubuna göre olumlu sonuçlar vermesine rağmen koşullama gruplarına göre artmış doku hasarı ile sonuçlandığını düşünmekteyiz. Sonuç olarak iskemik önkoşullama metodu geciktirme gruplarının ikisine göre iskemi/reperfüzyon hasarından koruyuculukta daha etkilidir. İskemik önkoşullama yapılan gruba aynı zamanda iskemik ardkoşullama da eklendiğinde iskemi/reperfüzyon hasarından koruyucu etkisi artmaktadır. Ancak bu konu ile ilgili daha fazla çalışmaya ihtiyaç duyulmaktadır.

6. SONUÇLAR

Yapılan istatistiksel analizde kontrol grubuna göre diğer 6 grubun da Mann-Whitney U testi ile yapılan değerlendirmesinde anlamlı olarak flep sağkalımını artırdığı saptandı. Geciktirme ve koşullama gruplarının aralarında üçlü kondüsyon grupları halinde kendi aralarında Kruskal Wallis tekniği ile yapılan analizinde hiçbir geciktirme yönteminin veya hiçbir koşullama yönteminin bir diğerine anlamlı farkı bulunmadı. Geciktirme yöntemleri ve koşullama yöntemleri ayrı ayrı birbirleri ile Mann-Whitney U testi ile karşılaştırıldılar. Geciktirme-1 yönteminin iskemik önkoşullama grubu ($p=0,008$) ve iskemik önkoşullama+iskemik ardkoşullama grubuna göre ($p=0,008$), geciktirme-2 yönteminin iskemik önkoşullama+iskemik ardkoşullama grubuna ($p=0,034$) göre, geciktirme-3 yönteminin iskemik önkoşullama grubu ($p=0,012$) ve iskemik önkoşullama+ iskemik ardkoşullama grubuna ($p=0,005$) göre yaşayan flep oranı anlamlı bir şekilde düşük bulunmuştur.

7. ÖZET

RAT İNFERİOR EPİGASTRİK DERİ FLEBİNDE FARKLI GECİKTİRME VE İSKEMİK KOŞULLAMA METODLARININ İSKEMİ/REPERFÜZYON SONRASI FLEP SAĞKALIMINA ETKİLERİNİN KARŞILAŞTIRILMASI

Uzamış iskemi sonrası dolaşımın aniden sağlanması sonucunda oluşan reperfüzyon hasarı rekonstrüktif cerrahide tam olarak çözülememiş bir problemdir. Çalışmamızda sıçan epigastrik deri flebinde iskemik önkoşullama ve iskemik ardkoşullamanın ayrı ayrı ve birlikte kullanımı ile üç farklı geciktirme metodunun iskemi/reperfüzyon hasarı sonrası flep sağkalımı üzerine etkilerinin değerlendirilmesi ve birbirleri ile karşılaştırılması amaçlandı.

70 adet Wistar ratta 6x3 cm'lik inferior epigastrik deri flebi kullanıldı. İskemik önkoşullama, iskemi öncesinde 15 dakika iskemi ve 15 dakika reperfüzyon periyotlarının 2 defa tekrarlanması ile yapıldı. İskemik ardkoşullama, iskemi sonrasında 30 saniye tam reperfüzyon, 30 saniye tam oklüzyon sikluslarının 6 defa tekrarlanması ile yapıldı. İskemik önkoşullama+iskemik ardkoşullama grubunda ise her iki işlem tek bir flebe uygulandı. Geciktirme metodları olarak ilk grupta planlanan flebin sadece deri adasının kesilmesi, ikinci grupta sadece karşı pedikülün kesilmesi, üçüncü grupta ise her iki işlemin birlikte uygulanması şeklinde planlandı. Geciktirme gruplarında 1 hafta sonra ikinci bir cerrahi işlem yapılarak flep tek pedikül üzerinde bırakıldı. Pedikül klemplenerek flebe 4 saat iskemi uygulandı. Bu sürenin sonunda klemp açılarak flep tekrar yerleştirildi ve sütüre edildi.

Hayvanlar her grupta 10 hayvan olacak şekilde rastgele 7 gruba ayrıldı. Kontrol grubu, flep kaldırılarak pedikülü vasküler klemple kapatılarak flebe 4 saat iskemi yapıldı. İskemik önkoşullama grubu, 4 saat iskemi öncesi iskemik önkoşullama yapıldı. iskemik ardkoşullama grubu 4 saat iskemi sonrası iskemik ardkoşullama yapıldı. iskemik önkoşullama+iskemik ardkoşullama grubu, 4 saat iskemiden önce iskemik önkoşullama yapıldı, iskemiden sonra da iskemik ardkoşullama yapıldı. Tüm koşullama gruplarında cerrahi işlemden 1 hafta sonra sıçanlar kurban edilerek yaşayan flep alanları ve tüm flep alanları ölçüldü. Geciktirme-1 grubu, planlanan deri adası kesildi. Geciktirme-2 grubu sol kasıktan 1 cm insizyon ile girilerek sol yüzeyel epigastrik damarlar bağlandı. Geciktirme-3 grubu, deri adası kesildi ve sol yüzeyel epigastrik

damarlar bağlandı. Tüm geciktirme gruplarında ilk cerrahi işlemde 1 hafta sonra fleplerin tamamı sadece pedikül korunacak şekilde kesilerek 4 saat iskemi uygulandı ve iskemi süresinin sonunda reperfüzyon sağlandı. Geciktirme gruplarında uygulanan ikinci cerrahi işlemde 1 hafta sonra sıçanlar sakrifiye edilerek flep yaşayan alanı değerlendirildi ve yaşayan flebin total flep alanına yüzdesi kayıt edildi. Toplam 10 rat (kontrol grubu 1: 1 rat öldü, geciktirme-1 grubu 3: 2 rat flebini yedi ve 1 rat öldü, geciktirme-2 grubu 2: 1 rat flebini yedi ve 1 rat öldü, geciktirme-3 grubu 1: 1 rat flebini yedi, iskemik önkoşullama grubu 2: 2 rat flebini yedi, iskemik önkoşullama+iskemik ardkoşullama grubu 2: 2 rat flebini yedi) çalışmadan çıkarıldı.

Sonuç olarak; iskemik önkoşullama metodu geciktirme gruplarının ikisine göre iskemi/reperfüzyon hasarından koruyuculukta daha etkilidir. İskemik önkoşullama yapılan gruba aynı zamanda iskemik ardkoşullama da eklendiğinde tüm geciktirme gruplarına göre iskemi/reperfüzyon hasarından koruyucu etkisi artmaktadır.

Anahtar kelimeler: İskemik ardkoşullama, iskemik önkoşullama, geciktirme metodları, iskemi/reperfüzyon hasarı.

7. ABSTRACT

COMPARISON BETWEEN VARIOUS CONDITIONING METHODS AND DELAY METHODS OF PREVENTION TO ISCHEMIA/REPERFUSION INJURY IN RAT INFERIOR EPIGASTRIC SKIN FLAPS

Reperfusion injury by the abrupt restoration of circulation after the prolonged ischemia still remains as a not-exactly solved problem in the reconstructive surgery. In our study, the effects of ischemic preconditioning, discretely and jointly usage of ischemic postconditioning, and the usage of three different delay methods in ischemia reperfusion injury in rat skin flaps were assessed and compared.

Epigastric skin flaps in sizes of 6x3 cm in 70 Wistar rats were used. Ischemic preconditioning was performed before four-hour-ischemic period by 2 cycles of 15 minutes of repeated ischemia/reperfusion periods. Ischemic postconditioning was performed as a cycle of 30 seconds of full reperfusion, followed by 30 seconds of complete occlusion. It was repeated six times after four-hour-ischemic period and prior to the unlimited reperfusion. Ischemic preconditioning+ischemic postconditioning were performed in order to combine these two methods. Delay methods were applied in three different types. Skin borders of the flap were incised in delay-1 method, contralateral pedicle was divided in delay-2 method, these two methods were performed together in delay-3 method. Secondary operation was required one week later in all delay groups. Flaps were harvested and only one pedicle were kept in second surgery. Four-hour-ischemia protocol was applied prior to placement of the flap.

The animals were allocated randomly into 7 groups, each group containing 10 animals. Control group; following the flap harvesting, pedicle was clamped with microvascular clamp for four hours. After that period of complete ischemia, clamp was removed in order to allow the circulation, and flap was replaced and sutured. Ischemic preconditioning group; ischemia was performed prior to four-hour-ischemic period. Ischemic postconditioning was performed in the ischemic postconditioning group, after the four-hour-ischemic period,. Ischemic preconditioning+ischemic postconditioning group; prior to four-hour-ischemic period preconditioning was performed and after that period of four hours, ischemic postconditioning was performed. Circulation was allowed after final ischemia. Flap was replaced and sutured.

One week after the surgery, surviving flap area was measured and recorded in all conditioning groups with sacrificing the rats. In delay-1 group, which had been planned, flap skin was cut without harvesting the base of. Delay-2 group, left epigastric vessels were tied and divided via 1 cm skin incision. Delay-3 group, both skin incision and dividing of left superficial epigastric vessels were applied in this group. One week after the first surgery, flaps were harvested, without dividing the pedicle, and four-hour-ischemia was performed in all delay groups. Following the ischemia, flap reperfusion was achieved. One week after the second surgery, surviving flap area was measured and recorded as a percentage to the whole flap area with sacrificing the rats. Total 10 rats (control group 1; rat died, delay-1 group 3; 1 rat died, 2 rats autocannibalised, delay-2 group 2; 1 rat died, 1 rat autocannibalised, delay-3 group 1; rat autocannibalised, ischemic preconditioning group 2; rats autocannibalised, ischemic preconditioning+ischemic postconditioning group 2; rats autocannibalised) were excluded from this study.

In conclusion, ischemic preconditioning has more protective effects than two of delay methods on ischemia-reperfusion injury in the rat inferior epigastric skin flap model. When ischemic postconditioning is added to ischemic preconditioning, protective effect of ischemic preconditioning on ischemia/reperfusion injury is increased further than all the delay methods.

Key words: Ischemic preconditioning, ischemic postconditioning, delay methods, ischemia/reperfusion injury.

9. KAYNAKLAR

1. Dunn RM, Mancoll J. Flap models in the rat: a review and reappraisal. *Plast Reconstr Surg* 1992; 90: 319-28.
2. Banic A, Greulich M. Late results of breast reconstruction with free TRAM flaps: a prospective multicentric study. *Plast Reconstr Surg* 1995; 95: 1195-203.
3. Akyürek M, Kayıkçıoğlu A, Şafak T. The arteriovenous crossflow flap of the rat. *Plast Reconstr Surg* 1998; 101: 2012-3.
4. Geddes CR, Morris SF, Neligan PC. Perforator flaps: evolution, classification, and applications. *Ann Plast Surg* 2003; 50(1): 90-9.
5. Yoshida WB, Campos EB. Ischemia and reperfusion in skin flaps: effects of mannitol and vitamin C in reducing necrosis area in a rat experimental model. *Acta Cir Bras* 2005; 20: 358-63.
6. Bakhach J. 1984-1994: Ten years of skin flaps. Recent advances in experimental surgery. *Ann Chir Plast Esthet* 1995; 40(5): 583-95.
7. Wei FC, Mardini S. Free-style free flaps. *Plast Reconstr Surg* 2004; 114(4): 910-6.
8. Schusterman MA, Kroll SS, Eldon ME. Immediate breast reconstruction: why the free TRAM over the conventional TRAM flap? *Plast Reconstr Surg* 1992; 90: 255-69.
9. Strock PE, Majno G. Microvascular change in the experimental tourniquet ischemia. *Surg Gynecol Obstet* 1969; 129: 1213-24.
10. Quinones-Baldrich WJ, Chervu A, Hernandez JJ, Colburn M, Moore WS. Skeletal muscle function after ischemia: "No reflow" versus reperfusion injury. *J Surg Res* 1991; 51: 5-12.
11. Takemura G, Fujiwara H. Morphological aspects of apoptosis in heart diseases. *J Cell Mol Med* 2006; 10: 56-75.
12. Van Cruchten S, Van Den Broeck W. Morphological and biochemical aspects of apoptosis, oncosis and necrosis. *Anat Histol Embryol* 2002; 31: 214-23.
13. Tritto I, Ambrosio G. Role of oxidants in the signaling pathway of preconditioning. *Antioxid Redox Signal* 2001; 3: 3-10.
14. Neri M, Cerretani D, Fiaschi AI, Laghi PF, Lazzarini PE, Maffione AB, et al. Correlation between cardiac oxidative stress and myocardial pathology due to acute and chronic norepinephrine administration in rats. *J Cell Mol Med* 2007; 11: 156-70.
15. Zhao ZQ, Vinten-Johansen J. Myocardial apoptosis and ischemic preconditioning. *Cardiovasc Res* 2002; 55: 438-55.
16. Reffelmann T, Kloner RA. The "no-reflow" phenomenon: basic science and clinical correlates. *Heart* 2002; 87: 162-8.
17. Stephen J. Mathes and Jamie Levine. Muscle and their blood supply. Sixth Edition by Charles H. Thorne. *Grabb and Smith's Plastic Surgery* 2007; 432.

18. Callegari PR, Taylor GI, Caddy CM, and Minabe T. An anatomic review of the delay phenomenon: I. Experimental studies. *Plast Reconstr Surg* 1992; 89: 397.
19. Taylor GI, Corlett RJ, Caddy CM and Zelt RG. An anatomic review of the delay phenomenon: II. Clinical applications. *Plast Reconstr Surg* 1992; 89: 408.
20. Morris SF, Taylor I. Predicting the survival of experimental skin flap with a knowledge of the vascular architecture. *Plast Reconstr Surg* 1993; 92(7): 1352-61.
21. Restifo RJ, Ahmed SS, Isenberg JS. Timing, magnitude, and utility of surgical delay in the TRAM flap: I. Animal studies. *Plast Reconstr Surg* 1997; 99(5): 1211-6.
22. Murry CE, Jennings RB, Reimer KA. Preconditioning with ischemia: a delay of lethal cell injury in ischemic myocardium. *Circulation* 1986; 74(5): 1124-63.
23. Pang CY, Yang R, Zhong A. Acute ischaemic preconditioning protects against skeletal muscle infarction in the pig. *Cardiovasc Res* 1995; 29: 782-8.
24. Quan E, Ramirez S, Barker JH. Late-phase ischemic preconditioning in skeletal muscle: is the phenomenon protective? *Microsurgery* 2004; 24(2): 151-6.
25. Angel MF, Ramasastry SS, Swartz WM. Free radicals: basic concept concerning their chemistry, pathophysiology, and relevance to plastic surgery. *Plast Reconstr Surg* 1987; 79: 990-7.
26. Webster RS, Montero EF, Fagundes DJ, Zettler CG, Coiro J. The role of ischemic preconditioning at the gracilis muscle of rats in the early phase of reperfusion injury. *Acta Cir Bras* 2006; 21(2): 80-6.
27. Wang WZ, Anderson G, Maldonado C, Barker J. Attenuation of vasospasm and capillary no-reflow by ischemic preconditioning in skeletal muscle. *Microsurgery* 1996; 17(6): 324-9.
28. Zahir KS, Syed SA, Zink JR. Ischemic preconditioning improves the survival of skin and myocutaneous flap in a rat model. *Plast Reconstr Surg* 1998; 102(1): 140-50.
29. Maldonado C, Stadelmann WK, Ramirez S. Preconditioning of latissimus dorsi muscle flaps with monophosphoryl lipid A. *Plast Reconstr Surg* 2003; 111(1): 267-74.
30. Harder Y, Amon M, Laschke MW. An old dream revitalised: preconditioning strategies to protect surgical flaps from critical ischaemia and ischaemia-reperfusion injury. *Journal of Plastic, Reconstructive & Aesthetic Surgery* 2008; 61: 503-11.
31. Adanalı G, Özer K, Siemonow M. Early and late effects of ischemic preconditioning on microcirculation of skeletal muscle flaps. *Plast Reconstr Surg* 2002; 109(4): 1344-52.
32. Mounsey RA, Pang CY, Forrest C. Preconditioning: a new technique for improved muscle flap survival. *Otolaryngol Head Neck Surgery* 1992; 107: 549-52.
33. Wang WZ, Anderson G, Firrell JC. Ischemic preconditioning versus intermittent reperfusion to improve blood flow to a vascular isolated skeletal muscle flap of rats. *J Trauma* 1998; 45: 953-9.
34. Zhao ZQ, Corvera JS, Halkos ME, Kerendi F, Wang NP, Guyton RA, Vinten-Johansen J. Inhibition of myocardial injury by ischemic postconditioning during reperfusion:

- Comparison with ischemic preconditioning. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 2003; 285: H579–H588.
35. Moon JG, Lim HC, Gye MR, Oh JS and Park JW. Postconditioning attenuates ischemia-reperfusion Injury in rat skin flap. *Microsurgery* 2008; 28: 531–7.
 36. Uslu A. Rat deri flebinde iskemik önkoşullama ve iskemik sonkoşullama yöntemlerinin birlikte kullanılması. Uzmanlık Tezi. Akdeniz Üniversitesi Tıp Fakültesi, Plastik, Rekonstrüktif ve Estetik Cerrahi Anabilim Dalı, Antalya 2009.
 37. Kerrigan CL, Stotland MA. Ischemia reperfusion injury: a review. *Microsurgery* 1993; 14: 165-75.
 38. Burnstock G, Ralevic V. New insights into the local regulation of blood flow by perivascular nerves and endothelium. *Br J Plast Surg* 1994; 47: 527-43.
 39. Banbury J, Siemionow M, Porvasnik S, Petras S, Zins JE. Muscle flaps'triphasic microcirculatory response to sympathectomy and denervation. *Plast Reconstr Surg* 1999; 104(3): 730-7.
 40. Kerrigan CL, Daniel RK. Monitoring acute skin-flap failure. *Plast Reconstr Surg* 71: 519-24.
 41. Kerrigan CL, Daniel RK. Skin flap research: A candid view. *Ann Plast Surg* 1984; 13: 383-7.
 42. Cetinkale O, Bilgic L, Bolayirli M, Sengul R, Ayan F, Burcak G. Involvement of neutrophils in ischemia-reperfusion injury of inguinal island skin flaps in rats. *Plast Reconstr Surg* 1998; 102(1): 153-60.
 43. Nathanson SE, Jackson RT. Blood flow measurements in skin flaps. *Arch Otolaryngol* 1975; 101: 354-7.
 44. Carroll WR, Esclamado RM. Ischemia/reperfusion injury in microvascular surgery. *Head Neck* 2000; 22: 700-13.
 45. Carden DL, Granger DN. Pathophysiology of ischemia-reperfusion injury. *J Pathol* 2000; 190: 255-66.
 46. Granger DN. Ischemia-reperfusion: Mechanism of microvascular dysfunction and the influence of risk factors for cardiovascular disease. *Microcirculation* 1999; 6: 167-78.
 47. Marczin N, El-Habashi N, Hoare GS, Bundy RE, Yacoub M. Antioxidant in myocardial ischemia-reperfusion injury: therapeutic potential and basic mechanisms. *Arch Biochem Biophys* 2003; 420: 222-36.
 48. Strock PE, Majno G. Microvascular changes in experimental tourniquet ischemia. *Surg Gynecol Obstet* 1969; 129: 1213-24.
 49. Mitchell RN, Cotran RS. Hücre zedelenmesi, adaptasyonu ve ölümü. In: Cevikbas U, ed. Robbins-Temel Patoloji, Ed. 7 Philadelphia: WB Saunders Co 2003: 1-34.
 50. Kouchoukos N, Blackstone E, Doty D, Hanley F, Karp R. Myocardial management during cardiac surgery with cardiopulmonary bypass. *Kirklin/Barratt-Boyes cardiac surgery*, Ed. 3. Philadelphia: Churchill Livingstone 2003; 131-53.

51. Lindsay T, Romaschin A, Walker PM. Free radical mediated damage in skeletal muscle. *Microcirc Endothelium Lymphatics* 1989; 5: 157.
52. Weiss SJ. Tissue destruction by neutrophils. *N Engl J Med* 1989; 320: 365-76.
53. Guo JP, Murohara T, Buerke M, Scalia R, Lefer AM. Direct measurement of nitric oxide release from vascular endothelial cells. *J Appl Physiol* 1996; 81: 774-9.
54. Lefer AM, Lefer DJ. The role of nitric oxide and cell adhesion molecules on the microcirculation in ischaemia-reperfusion. *Cardiovasc Res* 1996; 32: 743-51.
55. Wink DA, Mitchell JB. Chemical biology of nitric oxide: insights into regulatory, cytotoxic, and cytoprotective mechanisms of nitric oxide. *Free Radic Biol Med* 1998; 25: 434-56.
56. Granger DN. Role of xanthine oxidase and granulocytes in ischemia-reperfusion injury. *Am J Physiol* 1988; 255: 1269-75.
57. Tyler DD. Polarographic assay and intracellular distribution of superoxide dismutase in rat liver. *Biochem J* 1975; 147: 493-504.
58. Packer MA, Porteous CM, Murphy MP. Superoxide production by mitochondria in the presence of nitric oxide forms peroxynitrite. *Biochem Mol Biol Int* 1996; 40: 527-34.
59. Maier CM, Chan PH. Role of superoxide dismutases in oxidative damage and neurodegenerative disorders. *Neuroscientist* 2002; 8: 323-34.
60. Butcher EC. Leukocyte-endothelial cell recognition: three (or more) steps to specificity and diversity. *Cell* 1991; 67: 1033-6.
61. Carden DL, Smith JK, Korthuis RJ. Neutrophil-mediated microvascular dysfunction in postischemic canine skeletal muscle. Role of granulocyte adherence. *Circ Res* 1990; 66: 1436-44.
62. May JW Jr, Chait LA, O'Brien BM. The no-reflow phenomenon in experimental free flaps. *Plast Reconstr Surg* 1978; 61: 256.
63. Bagge U, Amundson B, Lauritzen C. White blood cell deformability and plugging of skeletal muscle capillaries in hemorrhagic shock. *Acta Physiol Scand* 1980; 108: 159-63.
64. Fernandez N, Martinez MA, Climent B, Garcia-Villalon AL, Monge L, Sanz E, Dieguez G. In vivo coronary effects of endothelin-1 after ischemia-reperfusion. Role of nitric oxide and prostanoids. *Eur J Pharmacol* 2003; 481: 109-17.
65. Tsao PS, Aoki N, Lefer DJ, Johnson G III, and Lefer AM. Time course of endothelial dysfunction and myocardial injury during myocardial ischemia and reperfusion in the cat. *Circulation* 1990; 82: 1402.
66. Kurose I, Wolf R, Grisham MB. Modulation of ischemia/reperfusion-induced microvascular dysfunction by nitric oxide. *Circ Res* 1994; 74: 376.
67. Cordeiro PG, Mastorakos DP, Hu QY. The protective effect of L-arginine on ischemia-reperfusion injury in rat skin flaps. *Plast Reconstr Surg* 100: 1227.

68. Chou CH, Chen LE, Seaber AV, Urbaniak JR. Effect of a nitric oxide donor on microcirculation of acutely denervated skeletal muscle during reperfusion. *J Reconstr Microsurg* 2002; 18: 53-60.
69. Kayvan TK, Kerrigan CL. The effects of Nitric oxide donor SIN-1 on ischemia-reperfused cutaneous and myocutaneous flaps. *Plast Reconstr Surg* 2002; 110: 169-76.
70. Saraste M. Oxidative phosphorylation at the fin de siecle. *Science* 1999; 283: 1488-93.
71. Rouslin W. Mitochondrial complexes I, II, III, IV, and V in myocardial ischemia and autolysis. *Am J Physiol* 1983; 244: 743-8.
72. Halestrap AP. The mitochondrial permeability transition: Its molecular mechanism and role in reperfusion injury. *Biochem Soc Symp* 1999; 66: 181-203.
73. Halestrap AP, Clarke SJ, Javadov SA. Mitochondrial permeability transition pore opening during myocardial reperfusion - A target for cardioprotection. *Cardiovasc Res* 2004; 61: 372-85.
74. Hill JH, Ward PA. The phlogistic role of C3 leukotactic fragments in myocardial infarcts of rats. *J Exp Med* 1971; 133: 885-900.
75. Riedemann NC, Ward PA. Complement in ischemia reperfusion injury. *Am J Pathol* 2003; 162: 363-7.
76. Vakeva AP, Agah A, Rollins SA, Matis LA, Li L, Stahl GL. Myocardial infarction and apoptosis after myocardial ischemia and reperfusion: role of the terminal complement components and inhibition by anti-C5 therapy. *Circulation* 1998; 97: 2259-67.
77. Wada K, Montalto MC, Stahl GL. Inhibition of complement C5 reduces local and remote organ injury after intestinal ischemia/reperfusion in the rat. *Gastroenterology* 2001; 120: 126-33.
78. Arumugam TV, Shiels IA, Woodruff TM, Reid RC, Fairlie DP, Taylor SM. Protective effect of a new C5a receptor antagonist against ischemia-reperfusion injury in the rat small intestine. *J Surg Res* 2002; 103: 260-7.
79. Weisman HF, Bartow T, Leppo MK, Marsh HC Jr, Carson GR, Concino MF, et al. Soluble human complement receptor type 1: in vivo inhibitor of complement suppressing post-ischemic myocardial inflammation and necrosis. *Science* 1990; 249: 146-51.
80. Zacharowski K, Otto M, Hafner G, Marsh HC Jr, Thiernemann C. Reduction of myocardial infarct size with sCR1sLe(x), an alternatively glycosylated form of human soluble complement receptor type 1 (sCR1), possessing sialyl Lewis X. *Br J Pharmacol* 1999; 128: 945-52.
81. Hill J, Lindsay TF, Ortiz F, Yeh CG, Hechtman HB, Moore FD Jr. Soluble complement receptor type 1 ameliorates the local and remote organ injury after intestinal ischemia-reperfusion in the rat. *J Immunol* 1992; 149: 1723-8.
82. Stammberger U, Hamacher J, Hillinger S, Schmid RA. sCR1sLe ameliorates ischemia/reperfusion injury in experimental lung transplantation. *J Thorac Cardiovasc Surg* 2000; 120: 1078-84.

83. Lehmann TG, Koeppel TA, Munch S, Heger M, Kirschfink M, Klar E, Post S. Impact of inhibition of complement by sCR1 on hepatic microcirculation after warm ischemia. *Microvasc Res* 2001; 62: 284-92.
84. Kyriakides C, Wang Y, Austen WG Jr, Favuzza J, Kobzik L, Moore FD Jr, Hechtman HB. Moderation of skeletal muscle reperfusion injury by a sLe(x)-glycosylated complement inhibitory protein. *Am J Physiol Cell Physiol* 2001; 281: 224-30.
85. Buerke M, Prufer D, Dahm M, Oelert H, Meyer J, Darius H. Blocking of classical complement pathway inhibits endothelial adhesion molecule expression and preserves ischemic myocardium from reperfusion injury. *J Pharmacol Exp Ther* 1998; 286: 429-38.
86. Coskunfirat OK, Ozkan O, Dikici MB. The Effect of Ischemic Preconditioning on Secondary Ischemia in Skin Flaps. *Ann Plast Surg* 2006; 57: 431-4.
87. Siemionow M, Arslan E. Ischemia/reperfusion injury: a review in relation to free tissue transfers. *Microsurgery* 2004; 24: 468-75.
88. Shin MS, Angel MF, Im MJ. Effects of 21-aminosteroid U74389F on skin-flap survival after secondary ischemia. *Plast Reconstr Surg* 1994; 94: 661-6.
89. Nahabedian MY, Momen B, Manson PN. Factors associated with anastomotic failure after microvascular reconstruction of the breast. *Plast Reconstr Surg* 2004; 114: 74-82.
90. Picard-Ami LA Jr, Thomson JG, Kerrigan CL. Critical ischemia times and survival patterns of experimental pig flaps. *Plast Reconstr Surg* 1990; 86: 739.
91. Kerrigan CL. Skin flap failure: Pathophysiology. *Plast Reconstr Surg* 1983; 72: 766.
92. Vedder N.B. Flap physiology. *Mathes Plastic Surgery*, 2nd edition Philadelphia: Saunders Elsevier Inc 2006; 1: 483-506.
93. Myers MB, Cherry G. Mechanism of the delay phenomenon. *Plast Reconstr Surg* 1969; 44: 52.
94. Myers MB., Cherry G. Differences in the delay phenomenon in the rabbit, rat, and pig. *Plast Reconstr Surg* 1971; 47: 73.
95. Myers MB, Cherry G. Augmentation of tissue survival by delay: An experimental study in rabbits. *Plast Reconstr Surg* 1967; 39: 397.
96. Ghali S, Butler PE, Tepper OM, Gurtner GC. Vascular delay revisited. *Plast Reconstr Surg* 2007; 119(6): 1735-44.
97. Park S, Teper OM, Galiano RD. Selective recruitment of endothelial progenitor cells to ischemic tissue with increased neovascularization. *Plast Reconstr Surg* 2004; 113(1): 284-93.
98. Lineaweaver WC, Lei MP, Mustain W, Oswald TM, Cui D, Zhang F. Vascular endothelium growth factor, surgical delay, and skin flap survival. *Ann Surg* 2004; 239(6): 866-73.
99. Murphy RC, Lawrence WT, Robson MC, Hegggers JP. Surgical delay and arachidonic acid metabolites: Evidence for an inflammatory mechanism. An experimental study in rats. *Br J Plast Surg* 1985; 38: 272.

100. Helisch A, Schaper W. Angiogenesis and arteriogenesis: Not yet for prescription. *Z Kardiol* 2000; 89: 239.
101. Lloyd PG, Yang HT, Terjung RL. Arteriogenesis and angiogenesis in rat ischemic hindlimb: Role of nitric oxide. *Am J Physiol* 2001; 281: H2528.
102. Carmeliet P. Mechanisms of angiogenesis and arteriogenesis. *Nat Med* 2000; 6: 389.
103. Akan M, Çakır B, Aköz T. Effects of clopidogrel and high dose aspirine on survival of skin flaps in rats. *Scand J Plast Reconstr Surg Hand Surg* 2005; 39: 7-10.
104. Restifo RJ, Ward BA, Scoutt LM. Timing, magnitude, and utility of surgical delay in the TRAM flap: II. Clinical studies. *Plast Reconstr Surg* 1997; 99(5): 1217-23.
105. Gözü A, Poda M, Taşkin EI, Turgut H, Erginel-Unaltuna N, Doğruman H, Ozsoy Z. Pretreatment with octreotide modulates iNOS gene expression, mimics surgical delay, and improves flap survival. *Ann Plast Surg* 2010; 65(2): 245-9.
106. Gümüş N, Odemiş Y, Tuncer E, Yılmaz S. The effect of topical minoxidil pretreatment on nonsurgical delay of rat cutaneous flaps: further studies. *Aesthetic Plast Surg* 2013; 37(4): 809-15.
107. Gürke L, Marx A, Sutter PM. Ischemic preconditioning improves post-ischemic skeletal muscle function. *Am Surg* 1996; 62: 391.
108. Woitaske MD, McCarter Roger MS. Effect of fiber type on ischemia-reperfusion injury in mouse skeletal muscle. *Plast Reconstr Surg* 1998; 102(6): 2052-63.
109. Rees R, Punch J, Shaheen K. The stress response in skin: the role of neutrophil products in preconditioning. *Plast Reconstr Surg* 1993; 92: 110-7.
110. Addison P, Neligan P, Forrest C, Pang CY. Acute adenosine treatment is effective in augmentation of ischemic tolerance in muscle flaps in the pig: an update. *Plast Reconstr Surg* 2003; 111(2): 842-5.
111. Zhang WJ, Shi ZX, Cui YJ. Allitridum mimics effect of ischemic preconditioning by activation of protein kinase C. *Acta Pharmacol Sin* 2001; 22(2): 132-6.
112. Carroll C, Carroll S, Overgoor M, Tobin G, Barker J. Acute ischemic preconditioning of skeletal muscle prior to flap elevation augments muscle-flap survival. *Plast Reconstr Surg* 1997; 100(1): 58-65.
113. Hausenloy DJ, Tsang A, Yellon DM. The reperfusion injury salvage kinase pathway: a common target for both ischemic preconditioning and postconditioning. *Trends Cardiovasc Med* 2005; 15: 69-75.
114. Bolli R. Cardioprotective function of inducible nitric oxide synthase and role of nitric oxide in myocardial ischemia and preconditioning: an overview of a decade of research. *J Mol Cell Cardiol* 2001; 33: 1897-918.
115. Erikson JM, Velasco CE. Endothelin-1 and myocardial preconditioning. *Am Heart J* 1996; 132: 84-90.

116. Bolli R, Li QH, Tang XL, Guo Y, Xuan YT, Rokosh G, et al. The late phase of preconditioning and its natural clinical application-gene therapy. *Heart Fail Rev* 2007; 12: 189–99.
117. Zahir KS, Syed SA, Zink JR, Restifo RJ, Thomson JG. Ischemic preconditioning improves the survival of skin and myocutaneous flaps in a rat model. *Plast Reconstr Surg* 1998; 102: 140–50; discussion 151–2.
118. Przyklenk K, Bauer B, Ovize M, Kloner RA, Whittaker P. Regional ischemic ‘preconditioning’ protects remote virgin myocardium from subsequent sustained coronary occlusion. *Circulation* 1993; 87: 893–9.
119. Addison PD, Neligan PC, Ashrafpour H, Khan A, Zhong A, Moses M, et al. Noninvasive remote ischemic preconditioning for global protection of skeletal muscle against infarction. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 2003; 285: H1435–H1443.
120. Kharbanda RK, Mortensen UM, White PA, Kristiansen SB, Schmidt MR, Hoschitzky JA, et al. Transient limb ischemia induces remote ischemic preconditioning in vivo. *Circulation* 2002; 106: 2881–3.
121. Künscher MV, Schirmbeck EU, Menke H. Ischemic preconditioning by brief extremity ischemia before flap ischemia in a rat model. *Plast Reconstr Surg* 2002; 109(7): 2398–404.
122. Gross ER, Gross GJ. Ligand triggers of classical preconditioning and postconditioning. *Cardiovasc Res* 2006; 70: 212–21.
123. Cohen MV, Baines CP, Downey JM. Ischemic preconditioning: from adenosine receptor of KATP channel. *Ann Rev Physiol* 2000; 62: 79–109.
124. Calvert JW, Gundewar S, Jha S, Greer JJ, Bestermann WH, Tian R, et al. Acute metformin therapy confers cardioprotection against myocardial infarction via AMPK-eNOS-mediated signaling. *Diabetes* 2008; 57: 696–705.
125. Lim SY, Davidson SM, Hausenloy DJ, Yellon DM. Preconditioning and postconditioning: the essential role of the mitochondrial permeability transition pore. *Cardiovasc Res* 2007; 75: 530–5.
126. Schoemaker RG, van Heijningen CL. Bradykinin mediates cardiac preconditioning at a distance. *Am J Physiol* 2000; 278: H1571–H1576.
127. Fryer RM, Auchampach JA, Gross GJ. Therapeutic receptor targets of ischemic preconditioning. *Cardiovasc Res* 2002; 55: 520–5.
128. Latchman DS. Heat shock proteins and cardiac protection. *Cardiovasc Res* 2001; 51: 637–46.
129. Kiumehr S, Demehri S, Rabbani S. Preconditioning of the rat random-pattern skin flap: modulation by opioids. *Br J Plast Surg* 2005; 58: 58–64.
130. Bose AK, Mocanu MM, Carr RD, Brand CL, Yellon DM. Glucagon-like peptide 1 can directly protect the heart against ischemia/reperfusion injury. *Diabetes* 2005; 54(1): 146–51.

131. Kitakaze M, Asakura M, Kim J. Human atrial natriuretic peptide and nicorandil as adjuncts to reperfusion treatment for acute myocardial infarction (J-WIND): 2 randomised trials. *Lancet* 2007; 370(9597): 1483-93.
132. Mudalagiri NR, Mocanu MM, Di Salvo C, Kolvekar S, Hayward M, Yap J, et al. Erythropoietin protects the human myocardium against hypoxia/reoxygenation injury via phosphatidylinositol-3 kinase and ERK1/2 activation. *Br J Pharmacol* 2008; 153: 50-6.
133. Cope DK, Impastato WK, Cohen MV, Downey JM. Volatile anesthetics protect the ischemic rabbit myocardium from infarction. *Anesthesiology* 1997; 86(3): 699-709.
134. Preckel B, Schlack W, Comfere T, Obal D, Barthel H, Thamer V. Effects of enflurane, isoflurane, sevoflurane and desflurane on reperfusion injury after regional myocardial ischaemia in the rabbit heart in vivo. *Br J Anaesth* 1998; 81(6): 905-12.
135. Penta de Peppo A, Polisca P, Tomai F. Recovery of LV contractility in man is enhanced by preischemic administration of enflurane. *Ann Thorac Surg* 1999; 68(1): 112-8.
136. Belhomme D, Peynet J, Louzy M, Launay JM, Kitakaze M, Menasche P. Evidence for preconditioning by isoflurane in coronary artery bypass graft surgery. *Circulation* 1999; 100(19 suppl): II340-II344.
137. Davidson SM, Hausenloy D, Duchon MR, Yellon DM. Signalling via the reperfusion injury signalling kinase (RISK) pathway links closure of the mitochondrial permeability transition pore to cardioprotection. *Int J Biochem Cell Biol* 2006; 38(3): 414-9.
138. Das A, Xi L, Kukreja RC. Phosphodiesterase-5 inhibitor sildenafil preconditions adult cardiac myocytes against necrosis and apoptosis. Essential role of nitric oxide signaling. *J Biol Chem* 2005; 280: 12944-55.
139. Bell RM, Yellon DM. Atorvastatin, administered at the onset of reperfusion, and independent of lipid lowering, protects the myocardium by up-regulating a pro-survival pathway. *J Am Coll Cardiol* 2003; 41(3): 508-15.
140. Behtash G, Sina R, Taha G, Mehdi G, Hamed S, Shahram EM, Seyed H, and Ahmad RD. Pharmacologic Preconditioning of Random-Pattern Skin Flap in Rats Using Local Cyclosporine and FK-506 Interaction With Nitric Oxide System. *Annals of Plastic Surgery* 2007; 59(4).
141. Dikici M, Coskunfirat K, Uslu A. Effect of Cyclooxygenase-2 on Ischemic Preconditioning of Skin Flaps. *Annals of Plastic Surgery* 2009; 63(1): 100-4.
142. Pang CY, Forrest CR, Mounsey R. Pharmacologic intervention in ischemia-induced reperfusion injury in the skeletal muscle. *Microsurgery* 1993; 14: 176.
143. Hopper RA, Forrest CR, Xu H. Role and mechanism of PKC in ischemic preconditioning of pig skeletal muscle against infarction. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol* 2000; 279: 666-76.
144. Restifo RJ, Thomson JG. The preconditioned TRAM flap: Preliminary clinical experience. *Ann Plast Surg* 1998; 41: 343.
145. Cheng MH, Chen HC, Wei F. Combined ischemic preconditioning and laser Doppler measurement for early division of pedicled groin flap. *J Trauma* 1999; 47: 89.

146. Van Vuuren D, Lochner A. Ischaemic postconditioning: from bench to bedside. *Cardiovasc J Afr* 2008; 19(6): 311-20.
147. Crisostomo PR, Wang M, Wairiuko GM, Terrell AM, Meldrum DR. Postconditioning in females depends on injury severity. *J Surg Res* 2006; 134: 342-7.
148. Bopassa J-N, Ferrera R, Gateau-Roesch O, Couture-Lepetit E, Ovize M. PI 3-kinase regulates the mitochondrial transition pore in controlled reperfusion and postconditioning. *Cardiovasc Res* 2006; 69: 178-85.
149. Kin H, Zhao ZQ, Sun HY, Wang NP, Corvera JS, Halkos ME, Kerendi F, Guyton RA, Vinten-Johansen J. Postconditioning attenuates myocardial ischemia-reperfusion injury by inhibiting events in the early minutes of reperfusion. *Cardiovasc Res* 2004; 62: 74–85.
150. Mykytenko J, Kerendi F, Reeves JG, Kin H, Zatta AJ, Jiang R. Long-term inhibition of myocardial infarction by postconditioning during reperfusion. *Basic Res Cardiol* 2007; 102: 90-100.
151. Coskunfirat OK, Cinpolat A, Bektas G, Ogan O, Taner T. Comparing different postconditioning cycles after ischemia reperfusion injury in the rat skin flap. *Ann Plast Surg* 2014; 72: 104-7.
152. Sun HY, Wang NP, Kerendi F. Hypoxic postconditioning reduces cardiomyocyte loss by inhibiting ROS generation and intracellular Ca²⁺ overload. *Am J Physiol* 2005; 288: H1900–8.
153. Yang XM, Proctor JB, Cui L. Multiple, brief coronary occlusions during early reperfusion protect rabbit hearts by targeting cell signaling pathways. *J Am Coll Cardiol* 2004; 44: 1103–10.
154. Yang XM, Philipp S, Downey JM. Postconditioning's protection is not dependent on circulating blood factors or cells but involves adenosine receptors and requires PI3-kinase and guanylyl cyclase activation. *Basic Res Cardiol* 2005; 100: 57–63.
155. Jin ZX, Zhou JJ, Xin M, Peng DR, Wang XM, Bi SH. Postconditioning the human heart with adenosine in heart valve replacement surgery. *Ann Thorac Surg* 2007; 83: 2066-73.
156. Petronilli V, Cola C, Bernardi P. Modulation of the mitochondrial cyclosporin A-sensitive permeability transition pore: II. The minimal requirements for pore induction underscore a key role for transmembrane electrical potential, matrix pH, and matrix Ca²⁺. *J Biol Chem* 1993; 268(2): 1011-6.
157. Zhao JL, Yang YJ, You SJ, Cui CJ, Gao RL. Different effects of postconditioning on myocardial no-reflow in the normal and hypercholesterolemic mini-swines. *Microvasc Res* 2007; 73: 137-42.
158. Loukogeorgakis SP, Panagiotidou AT, Yellon DM, Deanfield JE, MacAllister RJ. The postconditioning protects against endothelial ischemia-reperfusion injury in human forearm. *Circulation* 2006; 113: 1015-9.
159. Csonka C, Szucs G, Varga-Orvos Z, Bencsik P, Csont T, Zvara A, et al. Ischemic postconditioning alters the gene expression pattern of the ischemic heart. *Exp Biol Med* 2014: PMID: 24414479.

160. Gürlek A, Kroll SS, Schusterman MA. Ischemic time and free flap success. *Ann Plast Surg* 1997; 38(5): 503-5.
161. Inou S, Asai Y, Kawai Y. Age-Dependent Changes of Postischemic Reperfusion in Rat Skin. *Annals of Plastic Surgery* 2003; 50(1): 65-70.
162. Wang WZ. Investigation of reperfusion injury and ischemic preconditioning in microsurgery. *Microsurgery* 2009; 29(1): 72-9.
163. Korthuis RJ, Granger DN, Townsley MI, Taylor AE. The role of oxygen derived free radicals in ischemia induced increases in canine skeletal muscle in postischemic skeletal muscle vascular permeability. *Circ Res* 1985; 57: 599-609.
164. Cerra FB, Lajos TZ, Montes M. Hemorrhagic infarction: A reperfusion injury following prolonged myocardial ischemic anoxia. *Surgery* 1975; 78: 95.
165. Bayramiçlı M. Deneysel Mikrocerrahi Temel Araştırma, Doku ve Organ Nakli Modelleri. Argos Yayıncılık, 1. Baskı 2005.
166. Strauch B, Murray DE. Transfer of composite graft with immediate suture anastomosis of its vascular pedicle measuring less than 1 mm. in external diameter using microsurgical techniques. *Plast Reconstr Surg* 1967; 40(4): 325-9.
167. Finseth F, Cutting C. An experimental neurovascular island skin flap for the study of the delay phenomenon. *Plast Reconstr Surg* 1978; 61: 412.
168. Özcan A. Deri flebi modelinde iskemik önkoşullama ve iskemik ardkoşullamanın flep sağkalımı üzerine etkilerinin karşılaştırılması. Uzmanlık Tezi. SB Şişli Etfal Eğt Ve Araş Hastanesi, Plastik ve Rekonstrüktif Cerrahi Kliniği, İstanbul 2009.
169. Pearl RM. A unifying theory of the delay phenomenon: Recovery from the hyperadrenergic state. *Ann Plast Surg* 1981; 7: 102.
170. Cutting CB, Bardach J, Finseth F. Haemodynamics of the delayed skin flap: A total blood-flow study. *Br J Plast Surg* 1981; 34: 133.
171. Kume M, Yamamoto Y, Saad S. Ischemic preconditioning of the liver in rats: implications of heat shock protein induction to increase tolerance of ischemia–reperfusion injury. *J Lab Clin Med* 1996; 128: 251-8.
172. Wang WZ, Tsai TM, Anderson GL. Late preconditioning protection is evident in the microcirculation of denervated skeletal muscle. *J Orthop Res* 1999; 17: 571.
173. Deyhimy DI, Fleming NW, Brodtkin IG, Liu H. Anesthetic Preconditioning Combined with Postconditioning Offers No Additional Benefit Over Preconditioning or Postconditioning Alone *Anesthesia & Analgesia* 2007; 105(2): 316-23.
174. Naparus A, Ashrafpour H, Huang N, Hofer SO, Zhong T, Forrest CR, Pang CY. Combination of hypoxic preconditioning and postconditioning does not induce additive protection of ex vivo human skeletal muscle from hypoxia/reoxygenation injury. *J Cardiovasc Pharmacol* 2012; 60: 347-56.